UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
AUG 27 '58

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
P. HUBER · R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA
Basel Lausanne Bern Zürich
Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

BIRKHÄUSER VERLAG BASEL
SUISSE – SCHWEIZ – SVIZZERA – SWITZERLAND

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

L. S. Levitt: The Proton Compton Wavelength as the 'Quantum' of Length . . . 233
Th. Hügi, F. de Quervain und G. Welti: Uranvererzungen in Gesteinen des Bernhardkristallins (Kt. Wallis, Schweiz) . . . 234
G. C. Amstutz: The Genesis of the Mississippi Valley Type Deposits, USA . . . 235
S. Ramaseshan and K. Venkatesan: Crystal and Molecular Structure of 3,3'-Dibromobenzophenone . . . 237
H. Linde und K. Meyer: Zur Konstitution des Resibufogenins und Artebufogenins . . . 238
R. Matthey: Un nouveau type de détermination chromosomique du sexe chez les mammifères *Ellobius lutescens* Th. et *Microtus* (*Chilotus*) *oregoni* Bachm. (Muridés-Microtinés) . . . 240
R. Amprino and M. Camosso: Experimental Observations on Influences Exerted by the Proximal over the Distal Territories of the Extremities . . . 241
A. Stolk: A Transplantable Fibroma of the Skin in the Newt *Triturus taeniatus* . . . 243
A. Stolk: Some Species-Specific Tumours in Fishes . . . 244
D. Lockner: Kalium-Austausch zwischen Plasma und Erythrozyten beim Karzinom . . . 244
B. D. Sanwal: A Study of Transamination System in *Fusarium* . . . 246
W. J. P. Neish: Specific Rotation of Phenylacetylglutamine Excreted by Cancer Patients and Normal Subjects . 247
B. V. Siegel: Incorporation of Adenine-4,6-C^{14} into Nucleic Acids . . . 248
T. Niebrój: Do Any Morphological Pictures of Separated Excretion of Histamine and Heparine in Tissue Mast Cells Exist? . . . 249
E. J. Harris and T. A. J. Prankerd: Phloridzin and Red Cell Phosphate Turnover . . . 249
J. C. George, N. V. Vallyathan, and K. S. Scaria: Lipase Activity in Insect Flight Muscle . . . 250
E. Rocca and L. Maldacea: Attempt to Separate ATPase Activity from 5'-AMPdeaminase Activity of Myosin . 252
M. Sacchetto e C. R. Rossi: I processi di attivazione dei sistemi enzimatici ossidasici dei grassi. I . . . 253
C. R. Rossi e M. Sacchetto: Influenza dell'arseniato sui processi di attivazione dei sistemi enzimatici ossidasici dei grassi. II . . . 254
H. Elbel: Tierexperimentelle Studien über die Alkoholverbrennung . . . 255

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Chromosomes, Sex-Cells and Evolution in a Mammal, par Ph. V. Tobias (Ref. R. Matthey) . . . 256

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

R. Rometsch, M. Thürkauf und K. Miescher: Der Optimalfarbzug als Konzentrationsreihe eines idealen Farbstoffes (Studiorum progressus) . . . 257

BIOLOGICAL LABORATORY PRODUCTS

DMPP

(dimethyl-phenyl-piperazinium iodide)

A ganglion
stimulating agent.

(1,4-Di-pyrrolidino-2-butyne)*

Convulsive agent
(parkinsonian)

* Everett's 'Tremorin'

FICOLL

(water-soluble, polymolecular, neutral colloid of polysaccharide character)

A suspending agent of low viscosity and high specific gravity in solution. For use in electrophoresis, dialysis work etc.

DEXTRAN SULFATE

(as sodium salt)

An anticoagulant for use in animal and **in vitro** work

Write
for price schedule
and
information

Aktieselskabet Pharmacia
Dept. SP
Copenhagen-Vanløse
Denmark

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia XIV/4

Aktieselskabet Pharmacia, Copenhagen
Birkhäuser Verlag, Basel
Ciba AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
E. Mettler, Zürich
Sandoz AG., Basel
Wissensch. Verlagsgesellschaft m.b.H., Stuttgart
Zeitschr. für Naturforschung, Tübingen

Die EXPERIENTIA kann in folgenden Ländern durch die Post abonniert werden:
Des abonnements pour EXPERIENTIA peuvent être commandés près des bureaux de poste des pays suivants:

Italien	Belgien, Luxemburg	Dänemark	Schweden	Portugal
Deutschland	Holland	Norwegen	Finnland	Marokko

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an Fr. 44.– pour la Suisse; pour l'étranger Fr. 56.–. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 44.–, im Ausland sFr. 56.–.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.–, $^1/_2$ Seite Fr. 132.–, $^1/_4$ Seite Fr. 77.–. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e puo esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 44.– per la Svizzera; all'estero sfr. 56.–. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price by annual subscription by inland mail is fr. 44.–; other countries sfr. 56.–. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.–, $^1/_2$ page fr. 132.–, $^1/_4$ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

© *1958 Birkhäuser Verlag, Basel 10 Schweiz, Elisabethenstrasse 19, Telephon (061) 231810; Telegrammadresse: Edita Basel*

Printed in Switzerland by Birkhäuser AG., Basel

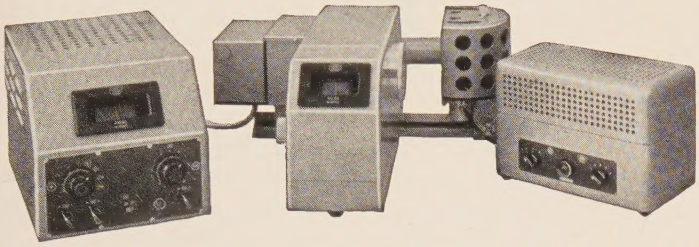
Das neue

ZEISS

Quarz-Spektralphotometer

PMQ II

erfüllt Ihre Wünsche!



Bitte verlangen Sie den ausführlichen Prospekt Nr. 05–657/E

Zuverlässige Beratung und Service durch eigenes Fachpersonal

CARL ZEISS

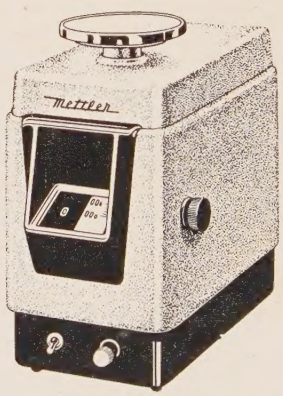
Generalvertretung für die Schweiz:

Beachten Sie die Vorteile:

- **Direktanzeige** des Meßwertes (ohne Einbuße an Meßgenauigkeit), dadurch Übersicht über das Absorptionsspektrum und Zeitgewinn.
- **Vollständiger Netzbetrieb.** Keine Akkumulatorwartung; jederzeit betriebsbereit.
- **Impulslicht – Wechselstromverfahren.** Dunkelstromeinstellung fällt weg und ebenso der feuchtigkeitsempfindliche Gleichstromverstärker (keine Trocknungspatronen mehr).
- **Meßbereich:** 200–2500 mμ.
- **Höchste Empfindlichkeit** durch Sekundärelektronen-Vervielfacher 1P28 und PbS-Photo-Widerstand.
- **Einfach-Monochromator** mit Quarz- oder Glasoptik oder **Doppel-Monochromator** mit auswechselbarer Quarz- und Glasoptik nach Wunsch.
- **Mikroküvetten** mit nur 0,2 cm^3 Füllvolumen pro Zentimeter Schichtlänge.
- **Flammen-, Fluoreszenz-, Remissions- und Chromatogrammzusätze.**

GANZ & CO
BAHNHOFSTR. 40
TEL. (051) 23 97 73
Zürich

E. Mettler
Pelikanstrasse 19
Zürich



Die modernen
Schnellwaagen
für Industrie
Gewerbe
und Handel

P 4

*

NATUR-WISSENSCHAFTLICHE RUNDSCHAU

Schriftleitung: H. Rotta

Berichtsheft Weltausstellung Brüssel 1958

Heft 6 – Juni 1958

AUS DEM INHALT:

Prof. Dr. H. Thirring, Wien:
Der Fortschritt und der Mensch

Nobelpreisträger Prof. Dr. Sir J. D. Cockcroft, Harwell Grossbritannien:
Kernenergie heute und morgen

Nobelpreisträger Prof. Dr. H. J. Muller, Bloomington USA:
Voraussichtliche Fortschritte der Biologie

Prof. Dr. J. M. Luck, Stanford USA:
Naturwissenschaftlicher Ausblick auf die künftige Entwicklung des menschlichen Daseins

Die Weltausstellung 1958 in Brüssel

(Berichtsteil mit 20 Seiten Text und 46 Abbildungen)

Eine Synthese der Bemühungen um eine bessere Welt
Das Atomium
Das internationale Palais der Naturwissenschaften

Prof. Dr. G. Gueben, Lüttich
Einführung in die Gruppe: Das Atom
Berichte über die Gruppe: Das Atom

Prof. Dr. W. de Keyser, Gent
Einführung in die Gruppe: Der Kristall
Berichte über die Gruppe: Der Kristall

Prof. Dr. G. Smets, Löwen
Einführung in die Gruppe: Das Molekül
Berichte über die Gruppe: Das Molekül

Prof. Dr. P. Bordet, Brüssel
Einführung in die Gruppe: Die lebende Zelle
Berichte über die Gruppe: Die lebende Zelle

Die Abteilungen der einzelnen Länder:
Belgien – Belgisch-Kongo und Ruanda-Urundi – Deutschland – Grossbritannien – Niederlande – Schweiz – UdSSR – USA – Die Ausstellungen der übrigen Länder

Nachrichten und Hinweise – Wissenschaftliche Gesellschaften und Tagungen – Hochschulnachrichten

Monatlich erscheint 1 Heft mit über 40 Seiten (DIN A4), Bezugspreis vierteljährlich DM 7.20, Studenten 20 % Nachlass.

Einzelheft DM 2.50

WISSENSCHAFTLICHE VERLAGSGESELLSCHAFT MBH. STUTTGART 1 POSTFACH 40

Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie

Revue suisse d'Hydrologie

Hydrographie, Hydrobiologie, Fischereiwissenschaft, Abwasserreinigung; Hydrographie, hydrobiologie, aquiculture, épuration des eaux polluées. – Herausgegeben von der Hydrobiologischen Kommission der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft – Erscheint seit 1920. – Redaktion: Professor Dr. O. Jaag, ETH, Zürich

Jährlich erscheinen 2 Hefte mit zusammen 400–500 Druckseiten. Abonnementspreis sFr. 32.– (DM. 32.–), Einzelheft sFr. 17.– (DM 17.–). Die Bände 1-19 (1920-1957) sind alle noch vorrätig und kosten sFr. 32.– pro Band (die Bände 9 und 10 können nicht einzeln abgegeben werden).

In Kürze erscheint Heft 1 (Band 20) 1958

Aus dem Inhalt:
G. Huber-Pestalozzi, Einige limnologische Beobachtungen an den Bergsturzseen von Flims.
Fritz Sulzer, Über das Verhalten wässeriger Ozonlösungen.
A. Hörler, Auswertung von 30jährigen Aufzeichnungen der Regenmeßstation Rotmonten in St. Gallen.
A. Hörler, Beitrag zur Frage der Schlammeindickung.
Rudolf Braun und Hans Allenspach, Versuche über die gemeinsame Verrottung von Müll und Klärschlamm.
Buchbesprechungen
Abwasserbiologische Kurse im Jahre 1959.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

Birkhäuser Verlag
Basel und Stuttgart

EXPERIENTIA

Vol. XIV - Fasc. 7 Pag. 233–268 15. VII. 1958

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

The Proton Compton Wavelength as the 'Quantum' of Length

The purpose of this note is to call attention to the very interesting fact that many of the experimentally measured lengths pertaining to fundamental nuclear forces appear to be integral multiples of the Compton wavelength, λ_0, of the proton, where $\lambda_0 = h/m_0c = 1{\cdot}32 \times 10^{-13}$ cm[1]. Thus, the effective range of the proton-proton singlet force is $2{\cdot}65 \times 10^{-13}$ cm ($= 2{\cdot}01\ \lambda_0$), and that of the neutron-proton singlet force is the same within experimental error; the singlet proton-proton scattering length is $17{\cdot}2 \times 10^{-13}$ cm ($= 13{\cdot}0\ \lambda_0$); the singlet neutron-proton scattering length is $23{\cdot}7 \times 10^{-13}$ cm ($= 18{\cdot}0\ \lambda_0$), and the corresponding triplet value is $5{\cdot}38 \times 10^{-13}$ cm ($= 4{\cdot}06\ \lambda_0$). Similarly, the coherent scattering length of neutrons by protons was found[2] to be $3{\cdot}96 \times 10^{-13}$ cm ($= 3{\cdot}00\ \lambda_0$), and the neutron scattering amplitude for carbon is $6{\cdot}63 \times 10^{-13}$ cm ($5{\cdot}01\ \lambda_0$).

It must be emphasized that all of these lengths, so important for their bearing on the theory of nuclear forces, are *experimental*[3], not theoretical quantities. Furthermore, it is of interest to note that the nuclear unit radius, R_0, for nuclei of $A \geqslant 200$ has recently been found to be $1{\cdot}32 \times 10^{-13}$ cm ($= 1{\cdot}00\ \lambda_0$)[4].

Also, the values obtained for R_0 of light nuclei by some ten different methods[5] range, in all cases, between 1·0 and $1{\cdot}5 \times 10^{-13}$ cm[6]. Thus it appears that the radius of the proton may well be its Compton Wavelength. The Table shows the fundamental nuclear lengths as multiples of λ_0 (which may conveniently be called the 'compton').

On the other hand, however, the triplet neutron-proton effective range[5] (p. 329) is $1{\cdot}70 \times 10^{-13}$ cm which is not an integral multiple of λ_0; and it is unlikely that the experimental value for this quantity is in error.

[1] This paper was presented at the New York Meeting of the American Physical Society, January 30, 1958.

[2] More recent values, however, are $3{\cdot}78 \times 10^{-13}$ cm [D. J. Hughes, *Pile Neutron Research* (Addison-Wesley Publ. Co., Cambridge, Mass. 1953)], and $3{\cdot}80 \times 10^{-13}$ cm [A. T. Stewart and G. L. S. Squires, Phys. Rev. *90*, 1125 L (1953)].

[3] R. D. Evans, *The Atomic Nucleus* (Mc-Graw Hill Book Co., New York 1955), Chapt. 10. – H. A. Bethe, *Elementary Nuclear Theory* (John Wiley and Sons, Inc., New York 1956), Chapt. 13 and p. 96.

[4] O. Miyatake, Progr. theor. Phys., Osaka *7*, 285 (1952).

[5] R. D. Evans, *The Atomic Nucleus* (Mc-Graw Hill Book Co., New York 1955), Chapt. 2.

[6] In addition, the radius of the first Bohr orbit of the hydrogen atom is $5{\cdot}29 \times 10^{-8}$ cm, which is equal to $4{\cdot}00 \times 10^4\ \lambda_0$, or $(200)^2\ \lambda_0$. Though this is a large number, it is surprising that it should be so close to the square of an even integer (200). Furthermore, the higher level Bohr orbits, which have radii n^2 times this value, are therefore $(200\ n)^2\ \lambda_0$ in radius.

The Fundamental Nuclear Lengths as Multiples of the 'Compton' (The probable error in the experimental measurements is given where available).

Measured Quantity	Length in cm $\times 10^{13}$	Length in 'comptons'	References
Nuclear unit radius for light elements	1·3 (average)	1·0	[5]
Nuclear unit radius for heavy nuclei ($A \geqslant 200$)	1·32	1·00	[4]
Proton-proton singlet force, effective range	2·65 ± 0·08	2·01 ± 0·06	[5] p. 341
Neutron-proton singlet force, effective range	2·7 ± 0·5	2·0 ± 0·4	[5] p. 329
Neutron-proton coherent scattering length	3·96 ± 0·2	3·00 ± 0·2	[5] p. 327
	(3·78 ± 0·03)	(2·88 ± 0·02)	
Triplet neutron-proton scattering length	5·38 ± 0·02	4·06 ± 0·02	[5] p. 329
Neutron scattering amplitude for carbon	6·63 ± 0·03	5·01 ± 0·02	[5] p. 328
Singlet neutron-neutron scattering length	15·9	12·0	[7]
Singlet proton-proton scattering length	17·2	13·0	[8] p. 96
Singlet neutron-proton scattering length	23·7 ± 0·05	18·0 ± 0·04	[5] p. 329

[7] R. H. Phillips and K. M. Crowe, Phys. Rev. *96*, 484 (1954). – R. D. Evans, *The Atomic Nucleus* (Mc-Graw Hill Book Co., New York 1955), p. 329.

[8] H. A. Bethe, *Elementary Nuclear Theory* (John Wiley and Sons, Inc., New York 1956), Chapt. 13 and p. 96.

Furthermore, the radius of a nuclear species is given by $R = R_0 A^{1/3} = \lambda_0 A^{1/3}$ (where A is the mass number), and unless A happens to be a perfect cube, it is apparent that the radius of the nucleus will not be a multiple of the 'compton'.

It is the belief of the author that the foregoing facts lend credence to the idea, first proposed by HEISENBERG[9], of the existence of a fundamental length.

L. S. LEVITT

Stevens Institute of Technology, Hoboken (N. J.), April 21, 1958.

Résumé

La plupart des longueurs expérimentales concernant les forces fondamentales dans le nucleus sont des multiples intégraux de la longueur d'onde Compton, λ_0, du proton, où $\lambda_0 = h/m_0 c = 1{\cdot}32 \times 10^{-13}$ cm (qui peut ainsi s'appeler un «compton»). Ces longueurs comprennent la portée effective des interactions des nucléons, et les amplitudes de dispersion.

On a également trouvé par différentes méthodes que le radius d'unité, R_0, du nucleus se situe entre 1,0 et 1,5 $\times$ 10^{-13} cm. Il semble donc que le vrai radius du proton peut bien être sa longueur d'onde Compton.

[9] A fundamental length of the order of 10^{-13} cm was first postulated by W. HEISENBERG, Ann. Phys. *32*, 20 (1938); Z. Phys. *120*, 513, 673 (1943). Of course, De Broglie wavelengths calculated for massive objects and high energy particles are very much smaller than this value, but their significance as physical lengths is certainly questionable.

Uranvererzungen in Gesteinen des Bernhardkristallins (Kt. Wallis, Schweiz)

1. *Einleitung.* Durch systematische Messungen[1] in Kraftwerkstollen sind mittels Szintillationszählern an verschiedenen Orten der Schweizer Alpen Gesteine mit stark erhöhter Radioaktivität gefunden worden, worüber die Tagespresse zum Teil bereits berichtete. Die vorliegende, vorläufige Mitteilung stellt eine erste Orientierung über die in Stollen der Grande Dixence S.A. gemachten Funde von bisher im Wallis unbekannten Uranvererzungen dar. Diese liegen, wie aus der Abbildung 1 hervorgeht, in einem Bereich der penninischen Alpen, der auch Fundstellen anderer Erzmineralien aufweist. Solche, in Abbildung 1 vermerkte Vorkommen vorwiegend sulfidischer Erze sind wenig erschürft und nur zeitweilig abgebaut worden.

2. *Uranerzfunde in Stollen der Grande Dixence S.A.* Im Verlaufe der systematischen Messungen[2] wurden im Spätherbst 1957 Funde von Gesteinen mit stark erhöhter Radioaktivität in Stollen zwischen den Zentralen Fionnay und Nendaz (Rhonetal) sowie im Fensterstollen Sarreyer gemacht (siehe Stelle *A* und *B* der Abbildung 1). Beide Lokalitäten liegen im Gebiet des Penninikums, und zwar der Bernharddecke.

[1] Siehe TH. HÜGI und F. DE QUERVAIN im Mitteilungsblatt Nr. 3 des Delegierten für Fragen der Atomenergie, November 1957 (Bern), wo über die durch die Schweizerische Studienkommission für Atomenergie finanzierten Arbeiten des «Arbeitsausschusses für die Untersuchung schweizerischer Mineralien und Gesteine auf Atombrennstoffe und seltene Elemente» berichtet wird.

[2] Die Aufnahmen in Stollen der Grande Dixence S. A. besorgte Herr G. WELTI, dipl. ing. geol. ETH, unterstützt durch Herrn J. NORBERT, géologue diplômé, und Hilfskräfte. Unter letzteren sei Herr C. ANTILLE erwähnt, der die Messungen in den fraglichen Stollenabschnitten durchführte.

a) *Die Vererzung im Stollen bei Isérables.* Bei den Messungen in dem mächtigen Komplex der Serie der Dent de Nendaz[3] wurden an verschiedenen Stellen der Stollenwand Strahlungsaktivitäten von 2 bis ungefähr 3 mr/h (γ- und β-Strahlung) gemessen. Diese Serie bildet nach CALAME[3] zusammen mit dem schieferigen und konglomeratischen Verrucano und der Arkose von Tion das Permo-Karbon. Letzterer Komplex wird in dem Gebiet von Nendaz gegen SE begrenzt durch die unteren Casannaschiefer, gegen NW folgt als jüngere Bildung die «Trias bordier», mit permotriadischem Gestein. Die Gesteine der Serie der Dent de Nendaz zeigen allgemein detritischen Charakter (= metamorph umgeprägte Konglomerate, Sandsteine und Phyllite).

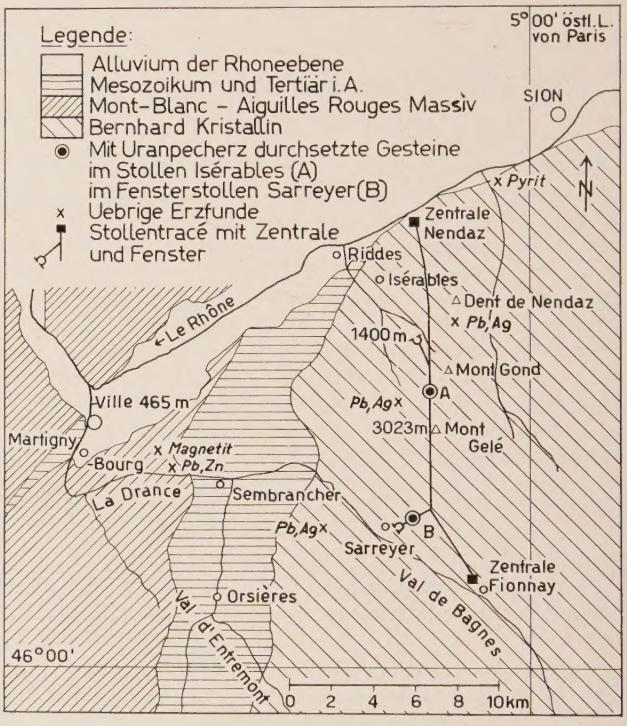


Abb. 1. Geologische Übersichtsskizze der Uranerzfunde in Stollen der Grande Dixence S. A.

Die Untersuchung der Felspartien mit stark erhöhter Aktivität hat bisher folgendes ergeben[4]: Der Stollen (*A* in Abb. 1) quert den Nordausläufer des Mont Gelé und ist an der interessierenden Stelle rund 1120 m überlagert. In mehr oder weniger schieferigen Chlorit-Serizitgneisen bis -schiefern (Streichen N 20 $\pm$ 5° E, Fallen 45–50° SE) treten in einem Gesteinskomplex von einigen 10 m verschiedene, meist zur Schieferung konkordant, lokal diskordant verlaufende, auffallend dunkle Lagen wechselnder Mächtigkeit auf. Darin erkennt man schon von Auge ein schwarzes Erz, meist begleitet von dunklem Chlorit und sehr charakteristisch rosagefärbten hellen Mineralien. Stellenweise sind direkt rötliche Quarzadern oder -lagen erkennbar, die mit den vererzten Lagen abwechseln (Rosa-Schwarzbänderung). Das Erz erscheint auch nesterartig im gefärbten Quarz oder im Gestein angereichert. In diesem stark aktiven Erz waren Uran neben Spuren von Thorium quantitativ chemisch leicht nachzuweisen.

[3] J. J. CALAME, Thèse n° 1171, Genève 1954.

[4] Ausdehnung und Charakter der U-Vererzung werden zurzeit durch Sondierarbeiten verfolgt.

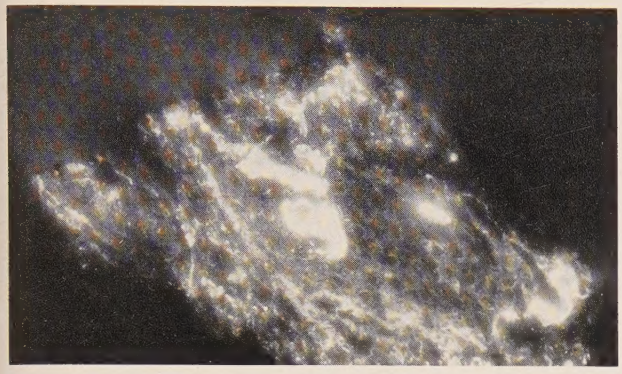


Abb. 2. Autoradiographie einer mit Uranpecherz durchsetzten Gesteinsprobe. Die unregelmässige und feine Durchdringung des Chlorit-Serizitgneises mit Uranerz (hell) ist deutlich erkennbar (Handstück Nr. 571008.5 aus Stollen Isérables. Kodak Commercial Ortho-Film, Exp. 52 h).

Der Uranträger konnte mittels chalkographischer und röntgenographischer Methoden eindeutig als Uranpecherz (Pechblende) identifiziert werden. Die Pechblende tritt meist in Form kleiner, kugeliger oder unregelmässig geformter Gebilde (Grösse meist unter 0,02 mm) auf. Sie erscheint eingeschlossen in Quarz, Chlorit (braune pleochroitische Höfe erzeugend), Serizit, selten in Karbonat und im Albit des Gesteins. Vielfach aggregieren sich die Körner zu grösseren, makroskopisch erkennbaren schwarzen Massen, die aber stets stark von Quarz oder Chlorit durchsetzt sind. Die stärker aggregierten Partien sind öfters gestreckt und verlaufen dann mehr oder weniger konkordant zu den Serizit-Chloritzügen oder Quarzlagen des Gesteins. Die Pechblende führenden Proben enthalten noch verschiedene weitere, meist schon von Auge sichtbare Erzmineralien. Nach erster Durchsicht wurden bestimmt: Pyrit, Kupferkies, Fahlerz, Bleiglanz, Covellin und als feinster Staub Hämatit. Im Dünnschliff zeigen die erzführenden Proben zur Hauptsache das Bild des normalen Gesteins: vorwiegend lagiges feinkörniges Gewebe von Quarz, unterbrochen von gewellten Serizit- und Chloritzügen. Eingelagert finden sich grössere Körner (bis über 1 mm) von Quarz und Albit, dazu in unterschiedlicher Menge Karbonat (Kalzit). Turmalin in idiomorphen dünnen Prismen tritt auffallend reichlich als Nebengemengteil auf. Das äussere Bild der Vererzung zeigt einerseits Analogien mit gewissen Cu-Bi-, Ni-Co- oder Pb-Zn-Lagergängen des umgebenden Casannaschieferkomplexes, andererseits sind doch wesentliche Unterschiede festzustellen, vor allem darin, dass die Pechblende nicht in einer Gangart, sondern verteilt im normalen Casannaschiefer selbst auftritt. Die Uranvererzung wird demnach als eine mit dem Nebengestein gleichaltrige Bildung gedeutet, während das Auftreten der genannten sulfidischen Begleiterze eher für deren jüngeres Alter spricht. Die Abbildung 2, eine Autoradiographie, vermittelt einen Eindruck von der Art der Durchsetzung des Gesteins mit Uranpecherz.

b) *Die Vererzung im Fensterstollen bei Sarreyer.* Die Feststellung von Felspartien mit stark erhöhter Radioaktivität wurde im Fensterstollen von Sarreyer (Val de Bagnes) ebenfalls mittels Szintillometer gemacht, und zwar bei *B* der Abbildung 1. Die gemessenen Aktivitäten im Stollen zeigten Werte bis 0,8 mr/h. Das aktive Gestein hat ein völlig unverdächtiges Aussehen. Es ist ein heller, karbonatführender Serizitquarzit, von vermutlich permotriadischem Alter (Serie des Mont Gond, siehe Abb. 1). Schieferungsflächen weisen einen Serizitbelag auf, der meist mit feinstem Erzpigment vermischt ist und daher dunkel erscheint. Im Schliff erkennt man in diesen metamorphen Quarziten neben rekristallisiertem Quarz, Serizit, Plagioklas und Kalzit grössere Mengen von Pyrit (grob- und feinkörnig) sowie ein feinstes, über die ganze Gesteinsmasse diffus verteiltes Erzpigment (Korngrösse um Tausendstelmillimeter). Auf einzelnen Zügen begleitet diesen Erzstaub feines Hämatiterz. In diesen Quarziten konnten Uran und Thorium quantitativ chemisch nachgewiesen werden. Auf Grund der gemachten Beobachtungen und Vergleiche[5] dürfte feinstverteilte Pechblende als Radioaktivitätsträger der Quarzite anzusehen sein.

Th. Hügi, F. de Quervain und G. Welti

Mineralogisch-petrographisches Institut der Universität Bern, Mineralogisch-petrographisches Institut der ETH Zürich und Grande Dixence S.A., Lausanne, 7. Mai 1958.

Résumé

Des roches radioactives ont été découvertes dans les galeries de la Grande Dixence S.A. (voir loc. *A* et *B* de la Fig. 1). Les analyses aux rayons X, les analyses chimiques et chalcographiques ont montré la présence de l'uranium sous forme de pechblende. La minéralisation se manifeste, dans les micaschistes gréseux et chloriteux, par des niveaux noirâtres. La pechblende est associée à la pyrite, la chalcopyrite, la galène, la covelline et l'hématite (loc. *A*). A Sarreyer (loc. B) la minéralisation n'est pas apparente. La roche radioactive est un quartzite sériciteux carbonaté, contenant de l'uranium.

[5] Siehe zum Beispiel Ch. Bizard, C. R. Acad. Sci. (Paris) *240*, 791 (1955).

The Genesis of the Mississippi Valley Type Deposits, USA

The three prevailing ideas on the genesis of the Lead-belt and the Tri-state deposits, or, more general, of the Mississippi Valley type deposits, are: (1) Epigenetic-hypogene origin, i.e. epigenetic hydrothermal multiple center or patchy replacement of carbonate rocks, partly controlled by bedding, composition, fractures, etc. (2) epigenetic-supergene origin, i.e. deposition by circulating groundwater, later than the formation of the sediments, and (3) syngenetic-supergene origin, i.e. weathering-derived lead formed contemporaneously with the sediments. These three interpretations, as well as a wealth of detailed observations, are contained in the publications of Bühler[1], Buckley[2], Keyes[3], Bastin[4], Weidman[5], Ohle and Brown[6], James[7], and others.

The fourth possibility, which has not been found in the literature, appears to explain the facts best: it is the syngenetic-hypogene origin, based on the volcanic-exhalative-sedimentary interpretation.

[1] H. A. Bühler, 16th Int. geol. Congr., Guidebook 2, p. 45 (1933).

[2] E. R. Buckley, *Geology of the disseminated lead deposits of St. Francois and Washington Counties, Missouri* (Mo. Bureau Geol. Min. IX, 1909), Part 1.

[3] C. R. Keyes, Trans. Amer. Inst. min. Engrs. *40*, 184 (1909).

[4] E. S. Bastin, 16th Int. geol. Congr., Guidebook 2, p. 32 (1933).

[5] S. Weidman, 16th Int. geol. Congr., Guidebook 2, p. 32 (1933).

[6] E. L. Ohle and J. S. Brown, Bull. geol. Soc. Amer. *65*, 201 (1954).

[7] J. A. James, Econ. Geol. *47*, 650 (1952).

The Pre-Cambrian of the Mississippi Valley region is known to consist mainly of igneous rocks: rhyolites, various porphyries, some pegmatites, many diabase and spilite dykes and sills, and granite intrusives. Tuffaceous beds with bentonites, sanidine, pumace, volcanic necks and submarine volcanic structures show that some volcanic activity has continued during the Paleozoic (see Kidwell[8], Allen[9], Bucher[10], Keller[11], etc.).

Volcanic-exhalative activity is a common accessory process accompanying and following extrusion periods. Since the volcanic activity as a whole has decreased from early geologic times, it is reasonable to assume that the exhalation of gases, the de-gassing of the earth's crust has also decreased. Barth[12] has related orogenic movements to the degassing of the earth. A statistical study of ore deposition in relation to geologic time suggested that ore deposition has also decreased during geologic history.

Hydrothermal vein deposition is only one product of the degassing of the earth's crust. A good portion of the volatile fraction escapes to the surface, and it is reasonable to assume that this escaping fraction has approximately as high a metal content as the portion which never reached the surface. The last assumption has been well confirmed by observations in volcanic areas, where sulfides are deposited at the present time. Numerous reports on such recent deposition are available. We can, at this time, only mention the fundamental work done by Behrend[13], Bernauer[14], and Zies[15].

A detailed analysis of mega- and micro-fabrics in the field and under the microscope, combined with physicochemical considerations of syngenetic versus epigenetic, and supergene versus hypogene origin, has led to the conclusion that a volcanic-exhalative interpretation serves, at the present stage, best as a working hypothesis for the bulk of the Mississippi valley type deposits. Isotopic (Brown *et al.*[16], Farquhar *et al.*[17], Kulp *et al.*[18]), liquid inclusion, and other published data appear to be explained more adequately by this new approach.

It is reasonable to assume that there is a connection between the basement rock and the mineralization in the overlaying sediments. It is believed that exploration should be based on the assumption that the areas with late Pre-Cambrian and Paleozoic volcanic or fumarolic activity underlay areas of strongest mineralization. The dolomitization and the cherts are two additional products of the syngenetic volcanic-exhalative mineralization. Murata[19] and others have shown that volcanic ashes and exhalative materials are normal and abundant sources for silica in sediments.

Criteria for syngenetic deposition are abundant. In the sandstones at the base of the Paleozoic Series the galena, marcasite, chalcopyrite, siegenite, etc. contain sand grains with no replacement features whatsoever, but with top-bottom features (see Shrock[20]) typical for syngenetic sedimentation. The concretionary, concentric fabrics at Fredricktown and elsewhere also exhibit syngenetic features, and the abundant barite occurrences exhibit equally features which rule epigenetic replacement out.

A few additional criteria against epigenetic replacement are: the absence of corroded crystals; the presence of larger idiomorphic carbonates *inside* the sulfides; the abundance of angular breccias with only rare traces of corrosion (replacement is corrosion and any corrosion eliminates sharp angular boundaries); the absence of diffusion replacement gradients such as demonstrated by De Jong[21]. The local zoning is best explained by exhalative deposition, whereas the causes for the broad zoning has to be explained by intracrustal migrations and differentiations in Archean times. The idea of an epigenetic diffusion-feeding and replacement deposition has thus to be abandoned. It is most interesting to note, and will be discussed in detail in a forthcoming paper (Amstutz[22]), that the extreme magmatists idea, i.e. epigenetic diffusion of hydrothermal fluids, is closely comparable to the diffusionists idea of 'granitization' and ore deposition. Thus it becomes true again: 'Les extrêmes se touchent'.

With regard to principal structures related to ore deposits of the Mississippi valley type, it seems that most structures existed apparently in the basement and were, partly, rejuvenated and partly replicated in the Paleozoic sediments. The faults served, as is well known from other shield areas, as channelways for the lavas during the main Pre-Cambrian volcanic activity, and later on, as channels for the exhalative gases and fluids. Like the epigenetic replacement theory, we thus suppose the ore fluids to move up along faults. The main difference between the old epigenetic-hydrothermal idea and this syngenetic-hydrothermal theory is, therefore, basically only the time and mechanism of deposition and not the ultimate origin of the ore fluids. Stable areas have long-lasting volcanic periods which are much longer than the short lived orogenic volcanism. The best accounts on Paleozoic volcanic activity in the area of Mississippi Valley type deposits are, to the knowledge of the present author, the papers by Allen[9], Kidwell[8], and Bucher[10].

The most remarkable structural features are the numerous polygonic ring-structures which can have diameters from one to ten miles and resemble a Puiseux-net (Havemann[23], p. 132–133) or a rhegmagenetic fracture system such as described from all continents by Sonder[24]. Polygonic horsts or graben are common features and are apparently inherited from the Pre-Cambrian basement and then also partly replicated in the Paleozoic sediments by rejuvenated movements[25]. The best known structures of this type are the ones in the Tri-state area, the ones controlling the ore zones at Iron Mountain (and probably also in other Missouri iron deposits), and the famous Crooked Creek structure in Central Missouri. Some of the ring type deposits in the lead belt may be due also to ring fractures and not only to ring type reefs[25]. Similar structures can be found in other parts of the Middle West (see for example Bucher's paper on cryptovolcanic

[8] A. L. Kidwell, Missouri geol. Survey, R. I. *4*, 83 (1947).

[9] V. T. Allen, J. Geol. *40*, 259 (1932).

[10] W. H. Bucher, 16th Int. geol. Congr., Rept. *8* (1936),

[11] W. D. Keller and A. Kiersch, Econ. Geol. *50*, 469 (1955).

[12] T. F. W. Barth, Verh. schweiz. naturf. Ges. *132*, 147 (1952).

[13] F. Behrend in: H. Reck, *Santorin, der Werdegang eines Inselvulkans und sein Ausbruch, 1925–1928* (Berlin 1936), vol. 2, p. 323–327.

[14] F. Bernauer, N. Jb. Miner. Beil. *69*, Abt. A, 60 (1934); *75*, 54 (1939).

[15] E. G. Zies, Nat. geogr. Soc., Contr. Techn. Papers, Katmai Ser. *1*, 159 (1924); *1*, 79 (1929); Amer. J. Sci. *235*A, 385 (1938).

[16] J. S. Brown *et al.*, Bull. geol. Soc. America *87* (abstract), 1689 (1956).

[17] R. M. Farquhar and G. L. Cumming, Trans. royal Soc. Canada *48*, 9 (1954).

[18] J. L. Kulp, G. C. Amstutz, and F. D. Eckelmann, Econ. Geol. *52*, 914 (1957).

[19] K. J. Murata, Amer. J. Sci. *238*, 586 (1940).

[20] R. R. Shrock, *Sequence in layered rocks* (McGraw Hill, New York 1948).

[21] G. De Jong, Trans. Amer. geophys. Un. *39*, 67 (1958).

[22] G. C. Amstutz, N. Jb. Min., Mh. *1*, 1 (1957) (part 1; part 2 unpublished).

[23] H. Havemann, Geologie *6*, 123 (1957).

[24] R. A. Sonder, *Mechanik der Erde* (Stuttgart 1956), p. 110.

[25] G. C. Amstutz, Nature (in print, 1958).

structures[10]). It is obvious that the restriction of the exploration thinking to the Paleozoic only has hampered the progress of ore finding.

Of special interest, structurally, is the brecciation and the pitches and flats. Along-side polygonal or straight graben and horst structures, the brecciation is due to faulting. Much, and possibly most, of the breccias extending over large horizontal distances, usually restricted to definite horizons, are caused by intraformational brecciation during earthquakes, which accompanied the volcanism. Brecciation is thus abundant both in the basement rocks and the Paleozoic sediments. Breccias have, locally, been cemented syngenetically by ore minerals. There is often a gradual transition from contortions of non- or partly consolidated sediments to post-diagenetic brecciation. In numerous places various generations of brecciation are visible and are associated with various generations of chert and ore mineralization. The breccias, the cherts, the dolomites, and the ore minerals are essentially syngenetic as concluded from the criteria listed above and additional information which will be presented in detail at a later date.

Pitches and flats can be explained as syn- or slightly postepigenetic structures caused by gravity differences or local tectonic disturbances. An excellent, though epigenetically interpreted, description of pitches and flats was given by Cox[26].

It is believed that this syngenetic-hypogene theory on the origin of the Mississippi Valley type deposits eliminates the difficulties encountered by the three old theories[27]. It is felt that it fits the facts better than the previous theories; yet it should be accepted as a working hypothesis and not as an authoritative dogma.

G. C. Amstutz

Department of Geology, School of Mines and Metallurgy, Rolla (Missouri), February 19, 1958.

Zusammenfassung

Die Streitfrage um die Genese der Mississippi-Valley-Pb-Zn-Lagerstätten wird zugunsten einer syngenetischen und hypogenen Entstehung aus hydrothermal-exhalativen, grossenteils kolloidal sedimentierten Erzlösungen entschieden. Diese drangen entlang uralten, immer wieder aufgebrochenen rhegmagenen Bruchsystemen auf.

[26] G. H. Cox, Illinois geol. Survey Bull. *21*, 120 (1914).

[27] After the completion of this manuscript, it came to the knowledge of the writer that a similar proposal was made with regard to many Alpine lead-zinc deposits (see Schneider[28] and Nickel[29]).

[28] H.-J. Schneider, Fortschr. Min. *32* (1953).

[29] E. Nickel, Chem. d. Erde *18*, 99 (1956).

Crystal and Molecular Structure of 3, 3′-Dibromobenzophenone

It has become increasingly clear that in benzophenone the steric hindrance between the hydrogen atoms in the 2, 2′-positions would prevent the molecule from being coplanar. It would therefore be of great interest to get a quantitative measure of this non-coplanarity by X-ray methods. With this view the determination of the crystal structures of a series of benzophenone derivatives have been undertaken in this laboratory and the present note gives the results obtained with 3, 3′-dibromobenzophenone.

The crystal belongs to the orthorhombic system with cell dimensions

$$a = 3{\cdot}99,\ b = 11{\cdot}70 \text{ and } c = 24{\cdot}69 \text{ Å}.$$

The space group is Pbcn and the unit cell contains four molecules. The C=O bond in the molecule coincides with a two fold axis of symmetry in the crystal.

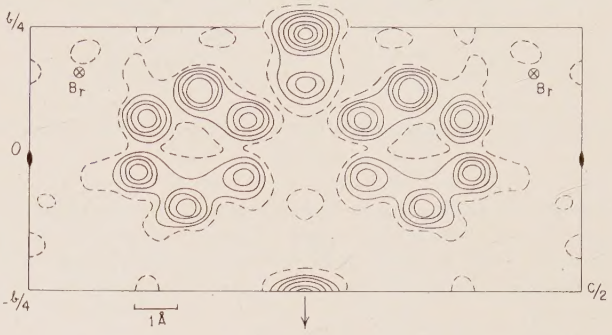


Fig. 1. – Fourier projection on the (100) plane with the Br atom removed. Contours are at arbitrary intervals. Dotted lines correspond to zero electron density.

Three dimensional Weissenberg data were obtained with CuKα radiation and the intensities were estimated visually. The structure was solved by the heavy atom method. The (y, z) coordinates of the bromine atom were determined from the Patterson projection on the (100) plane. Using the signs of a number of reflexions of the type (0kl) obtained from the contribution of the bromine atom, the first Fourier map was prepared which showed distinct peaks corresponding to the light atoms. The (y, z) co-ordinates were refined by a succession of difference syntheses. The Fourier projection on (100) plane with the bromine atom removed is shown in Figure 1. An estimate of the tilt of the benzene ring was made from the distortion it displayed on the (100) projection which gave the approximate x co-ordinate of the bromine atom. This was used for the determination of the x co-ordinate of all the atoms by the generalized Fourier projections using the (1kl) and (2kl) reflexions. The final atomic co-ordinates are given in the Table.

Atomic co-ordinates

Atom	x/a	y/b	z/c
C_1	0·025	0·075	0·196
C_2	−0·100	−0·038	0·194
C_3	−0·081	−0·092	0·142
C_4	0·055	−0·029	0·098
C_5	0·174	0·079	0·102
C_6	0·158	0·138	0·151
C_7	0·00	0·133	0·250
O	0·00	0·240	0·250
Br	0·3400	0·1573	0·0448

The R-factor for the 700 observed reflexions was 15·7%. The intramolecular distances and angles are indicated in Figure 2. The standard deviation in the bond lengths, estimated by Cruickshank's method[1] is of the order of 0·04 Å for C–C and C–O bonds.

[1] D. W. J. Cruickshank, Acta cryst. *2*, 65 (1949).

The angle between the 1, 4 axes of the phenyl groups is 126·2°. The equations of the planes of the benzene rings were determined by the method of least squares and it

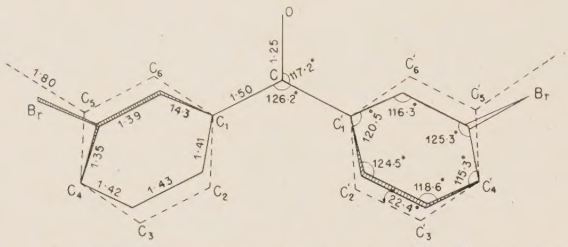
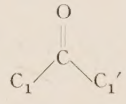


Fig. 2.—Bond lengths and bond angles for 3, 3′-dibromobenzophenone.

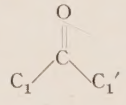
was found that none of the atoms was off the plane by more than 0·01 Å. The angle between the planes of the benzene rings is 39·9°; however each of the phenyl rings is twisted out of the common plane i.e., the plane containing



by an angle $\theta = 22{\cdot}4°$. It is estimated that the angles are accurate to $\pm$ 1·5°.

The elucidation of the stereochemistry of benzophenone derivatives by physical methods (magnetic susceptibility[2], dipole moment and ultraviolet spectra) was started as early as 1935, but unfortunately the substance under report has never been studied. However, the earlier workers were mostly interested in the angle between the 1, 4 axes of the two benzene rings and the values varying from 122° to 133° have been suggested. The value obtained in this determination is quite close to that computed by Coomber and Partington[3] from dipole moment measurements for benzophenone (125 $\pm$ 3°). By determining the exact positions of the two iodine atoms in 4, 4′-diiodobenzophenone by X-ray method, Manthey *et al.*[4] have reported the angle to be 123·5°. However, the complete structure of the molecule was not solved, thus leaving the non-planarity of the molecule an open question.

In recent years the changes in the frequencies and the intensities of the ultraviolet absorption bands have been used most successfully to get an idea of the aplanarity of molecules (Braude *et al.*[5]; O'Shaughness and Rodebush[6]; Jones[7]; Rekker and Nauta[8]) and a series of accurate studies have been made to determine how far the various symmetrically substituted derivatives differ from the unsubstituted benzophenone. For this purpose, the investigators have to assume the tilt of the benzene ring from the common plane



[2] K. Banerjee and A. Haque, Indian J. Phys. *11*, 87 (1938).

[3] D. I. Coomber and J. R. Partington, J. chem. Soc. *1938*, 1444.

[4] W. Manthey, K. Pleith, and A. Singewald, Z. Elektrochem. *56*, 690 (1952).

[5] E. A. Braude, F. Sondheimer, and W. F. Forbes, Nature *173*, 117 (1954). – E. A. Braude, Exper. *11*, 457 (1955).

[6] M. T. O'Shaughness and W. H. Rodebush, J. Amer. chem. Soc. *62*, 2906 (1940).

[7] R. Norman Jones, J. Amer. chem. Soc. *67*, 2127 (1945).

[8] R. F. Rekker and Th. W. Nauta, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *73*, 969 (1954).

and the calculated value of this angle depends on the assumptions made regarding the bond angles, bond lengths and the minimum distance of approach for the hydrogen atoms; hence the large discrepancy between the theoretical angles reported by Sutton and Coates[9] (28°) and Jones[7] (15°). This angle (θ) in the present case is 22·4° and the minimum distance of approach of the $(C_2)H$ and $(C_2')H$ is of the order of 2·2 Å. One must remember that additional intermolecular forces may come into play in a solid; but, as the distance between the atoms of neighbouring molecules is never less than 3·3 Å, one may presume that the only predominant forces are of the Van der Waals type.

It may be remarked that if the length of the bond connecting the phenyl ring to the carbonyl group becomes shorter due to substitution of electron releasing groups at the 4 position, then θ would become larger. This is perhaps the reason why in the case of 4, 4′-dimethoxy benzophenone[10] this angle is of the order of 30°.

The authors wish to thank Dr. M. V. Bhatt of the Department of Organic Chemistry, Indian Institute of Science, for kindly providing them with the samples.

S. Ramaseshan and K. Venkatesan

Department of Physics, Indian Institute of Science, Bangalore (India), April 23, 1958.

Résumé

La structure du cristal de 3, 3′-dibromobenzophénone a été définie par l'emploi de données obtenues par rayons X dans trois dimensions. Les distances et les angles de liaison ont été obtenus et l'on a trouvé que deux anneaux de phényle de la molécule ne sont pas dans le même plan, l'angle compris entre eux étant de 39,9°.

[9] G. E. Coates and L. E. Sutton, J. chem. Soc. *1942*, 567.

[10] I. L. Karle, H. Hauptman, J. Karle, and A. B. Wing, Acta cryst. *10*, 481 (1957).

Zur Konstitution des Resibufogenins und Artebufogenins

Eine eben erschienene rein theoretische Betrachtung von Thiessen[1], die sich – gestützt auf unsere früher[2] erhaltenen Resultate – unter anderem auch mit der Frage der Konstitution des Resibufogenins befasst und für dieses die Formel V in Vorschlag bringt, veranlasst uns, hier kurz, und früher als beabsichtigt[3], über ganz analoge Schlussfolgerungen zu berichten, die sich aus unseren neuesten experimentellen Untersuchungen am Resibufogenin und an seinen Isomerisierungsprodukten ergeben haben.

Beim Eindampfen einer Lösung von Resibufogenin (V) in Aceton hatte sich früher[2] rein zufällig und nicht reproduzierbar ein mit V isomeres Artefakt gebildet, das wir als Artebufogenin bezeichnet haben. Wir fanden nun, dass dieses ohne Schwierigkeiten durch Kochen von Resibufogenin in Aceton, das etwas Perchlorsäure enthält, bereitet werden kann. Artebufogenin ist instabil und wird durch Al_2O_3 in ein Isomeres umgelagert. Wir bezeichnen

[1] W. E. Thiessen, Chemistry and Ind. *1958*, 440.

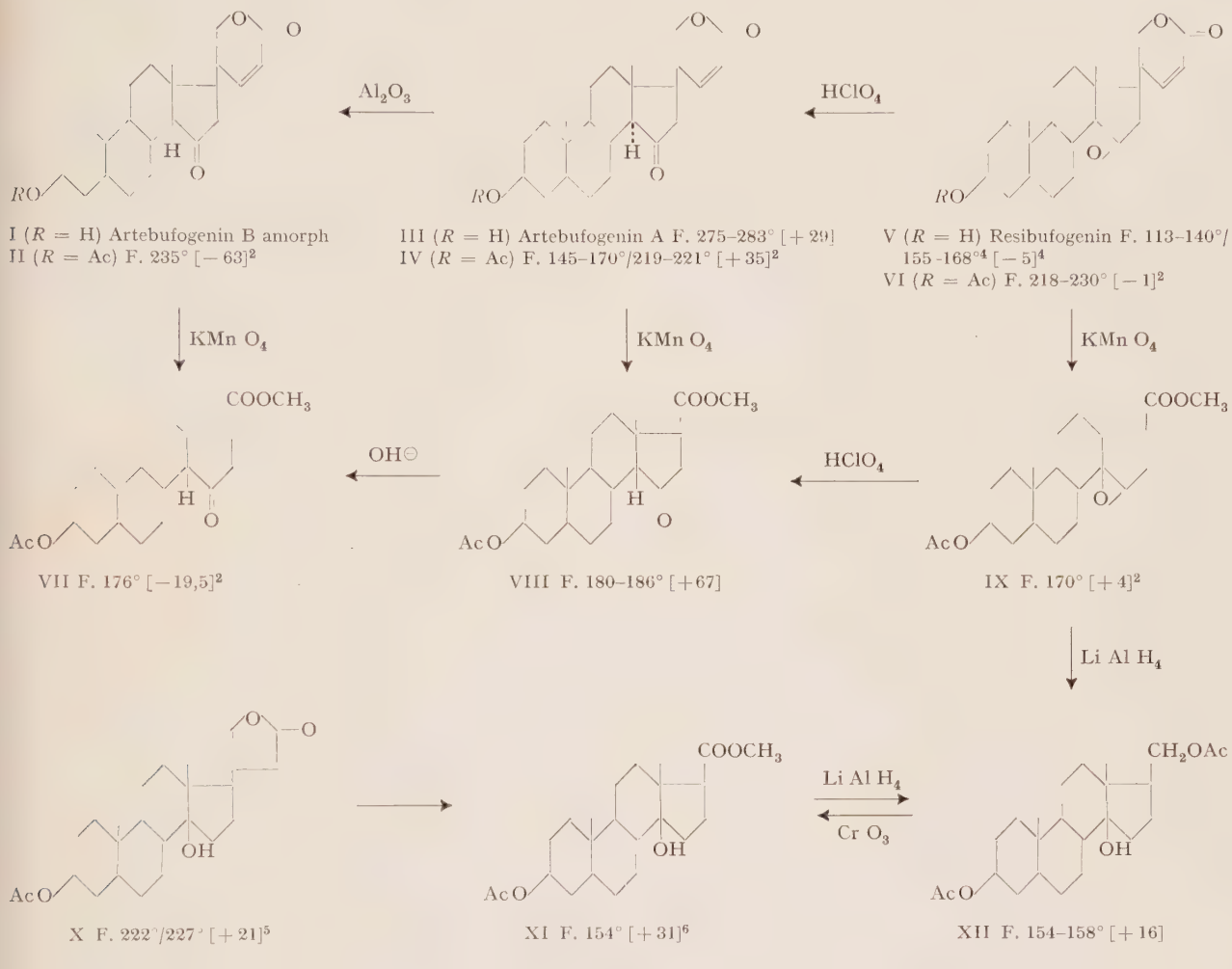
[2] K. Meyer, Helv. chim. Acta *35*, 2444 (1952).

[3] Die ausführliche Arbeit erscheint demnächst in Helvetica chimica Acta.

deshalb das erstere als Artebufogenin A (III) und das letztere als Artebufogenin B (I). Besonders leicht lässt sich diese Umlagerung mit der Acetylverbindung des Artebufogenins A (IV) durchführen, wobei die Acetylverbindung II gebildet wird. Diese ist identisch mit dem früher[2] beschriebenen Acetat A. Durch diese zum Teil neuen experimentellen Befunde sind wir in die Lage versetzt worden, uns ausreichende Mengen auch von diesen Substanzen für weitere Abbauversuche zu bereiten.

Triols die Diacetylverbindung XII bereiten. Damit ist experimentell einwandfrei bewiesen, dass der im Ester IX bzw. im Resibufogenin (V) früher angenommene Oxydring vom C–14 ausgeht und β-ständig angeordnet ist.

Die Grösse des Sauerstoffringes bzw. seine zweite Haftstelle am Steroidskelett ergibt sich auf Grund der folgenden Fakten. Wie früher[2] schon berichtet, geht Resibufogenin (V) bei der Einwirkung von HCl-Gas (in Aceton oder Chloroform) leicht in ein Chlorhydrin über, das bei



I (R = H) Artebufogenin B amorph
II (R = Ac) F. 235° [−63][2]

III (R = H) Artebufogenin A F. 275–283° [+29]
IV (R = Ac) F. 145–170°/219–221° [+35][2]

V (R = H) Resibufogenin F. 113–140°/155–168°[4] [−5]
VI (R = Ac) F. 218–230° [−1][2]

VII F. 176° [−19,5][2]

VIII F. 180–186° [+67]

IX F. 170° [+4][2]

X F. 222°/227° [+21][5]

XI F. 154° [+31][6]

XII F. 154–158° [+16]

[4] H. Linde und K. Meyer, Pharm. Acta Helv. *33*, (1958), im Druck.
[5] S. Rangaswami und T. Reichstein, Helv. chim. Acta *32*, 939 (1949).
[6] F. Hunziker und T. Reichstein, Helv. chim. Acta *28*, 1472 (1945).

Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spezifische Drehung für Natriumlicht an; Lösungsmittel: Chloroform. Ac = $-COCH_3$.

Zunächst unterzogen wir den früher schon beschriebenen und aus VI gewonnenen Abbauester IX der Reduktion mit $LiAlH_4$. Dabei erhielten wir ein Triol, aus dem wir die Diacetylverbindung XII bereiteten. XII gab nach partieller Verseifung (an C–20) und Oxydation mit CrO_3 in Eisessig ungefähr zu gleichen Teilen saure und neutrale Anteile. Die sauren Anteile lieferten nach Methylierung den Ester XI, der in allen Punkten (Schmelzpunkt, Mischprobe, Drehung, IR.-Spektrum) identisch war mit dem aus Acetyldigitoxigenin (X) erhaltenen 3β-Acetoxy-14β-hydroxy-ätiansäure-methylester (XI)[6]. Umgekehrt lässt sich aus dem Ester XI leicht durch Reduktion mit $LiAlH_4$ und Acetylierung des dabei gebildeten rohen

der Chromatographie an Al_2O_3 unter Verlust von HCl wieder Resibufogenin gibt. Diese sehr leicht verlaufende Reaktionsfolge ist nur erklärbar unter der Annahme, dass der postulierte Ringsauerstoff in einer Epoxy-Gruppe enthalten ist. Da, wie oben ausgeführt, die eine Haftstelle des Oxydrings mit Bestimmtheit an C–14 lokalisiert werden konnte, wäre Resibufogenin somit als 8,14- oder 14,15-Oxidoverbindung zu formulieren. Dass die zweite Möglichkeit allein in Frage kommt, ergibt sich aus den früher[2] mitgeteilten Befunden, wonach bei der Umlagerung von Resibufogenin in Artebufogenin eine Ketogruppe gebildet wird. Eine solche kann nur dann aus einem Epoxyd entstehen, wenn dieses sekundär-tertiär.

das heisst im vorliegenden Fall an C–14/C–15 gebunden ist. Für diese Schlussfolgerung lässt sich, wie wir jetzt fanden, auch ein exakter chemischer Beweis erbringen. Durch oxydativen Abbau der Acetylverbindungen II und IV konnten die Ester VII und VIII gewonnen werden. Während beim Ester VII, wie früher[2] schon erwähnt, durch die Einwirkung starker Alkalien lediglich eine Verseifung der Estergruppen eintritt, wird der Ester VIII teilweise umgelagert und gibt nach Remethylierung und Acetylierung den Ester VII. Dieser war schon früher[2] als Ketoverbindung erkannt worden. Die äusserst leicht verlaufende Umlagerung von IV in II, die in der Art und im Ergebnis gleich sein muss wie die viel schwerer und unvollständiger verlaufende Isomerisierung von VIII nach VII, kann nur damit erklärt werden, dass ein der Ketogruppe benachbartes Asymmetriezentrum in VIII einen Konfigurationswechsel erfahren hat, für das auf Grund der oben mitgeteilten Befunde nur die Ringverknüpfungsstelle an C–14 in Frage kommt. Dass den Estern VII und VIII tatsächlich die durch die angegebenen Formelbilder dargestellte Konstitution zukommt, hat endlich noch ein direkter Vergleich mit den beiden von Reichstein *et al.*[7] aus 3β-Acetoxy-14,15α-oxido-ätiansäuremethylester erhaltenen an C–14 epimeren 15-Ketoestern VII und VIII ergeben.

Wir danken der CIBA AG., Basel, bestens für die Unterstützung dieser Arbeit.

H. Linde und K. Meyer

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel, 12. Mai 1958.

Summary

The structure of Resibufogenin is unambiguously shown to be 3β-hydroxy-14,15β-oxido-bufadien-(20,22)-olide on the basis of new degradation work. Artebufogenin A and Artebufogenin B are 3β-hydroxy-14α-15-keto-bufadien-(20,22)-olide and 3β-Hydroxy-14β-14-keto-bufadien-(20,22)-olide, respectively.

[7] Wir danken Herrn Prof. T. Reichstein bestens für die Überlassung dieses Vergleichsmaterials, das das Ergebnis noch unveröffentlichter Versuche in dieser Reihe darstellt.

Un nouveau type de détermination chromosomique du sexe chez les mammifères *Ellobius lutescens* Th. et *Microtus (Chilotus) oregoni* Bachm. (Muridés-Microtinés)

Sur plus de 200 mammifères dont la formule chromosomiale est connue, peu d'espèces ne relèvent pas du schéma classique: ♂ *X–Y*, ♀ *X–X*. Ces exceptions sont les suivantes: Marsupiaux: *Macropus ualabatus* (Agar[1], Sharman, Mc Intosh et Barber[2]) a 11 chromosomes chez le ♂ et 10 chez la ♀, soit $8 + XY^1–Y^2$ et $8 + XX$. *Potourus tridactylus* (Sharman, Mc Intosh et Barber[2], Sharman et Barber[3]) présente le même type de digamétie, les nombres diploïdes étant de 13 (♂) et de 12 (♀). Euthériens: *Sorex araneus* (Bovey[4], Sharman[5]) relève du même schéma, le ♂ ayant 23 chromosomes et la ♀ 22; et c'est encore au même type que nous avons affaire avec *Gerbillus gerbillus* (Matthey[6], Wahrman et Zahavi[7]) où le ♂ est doté de 43 chromosomes, la ♀ de 42. Un cas un peu différent est celui de *Gerbillus pyramidum* (Matthey[8]): il y a, chez le ♂, formation facultative d'un quadrivalent sexuel, *XAYA*.

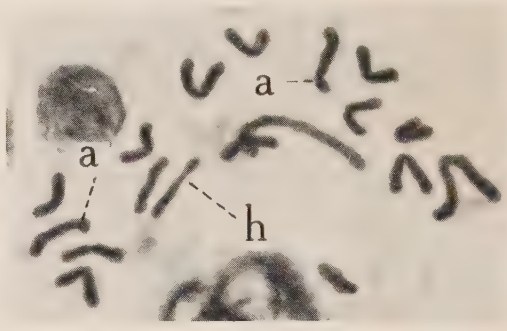
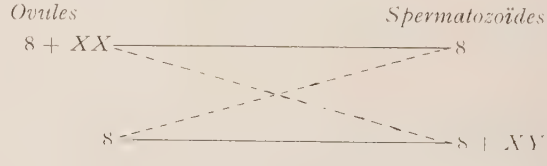


Fig. 1. *Microtus oregoni* ♂. Division spermatogoniale. *aa*) la paire d'autosomes acrocentriques; *h*) hétérochromosome acrocentrique à centromère étiré. × 1800.

L'existence d'une digamétie de type ♂ *X–O*, ♀ *X–X* est des plus douteuse, les cas de *Apodemus speciosus, Evotomys bedfordiae* et *Microtus montebelli* (Oguma[9]) devant être revus (voir Matthey[10]).

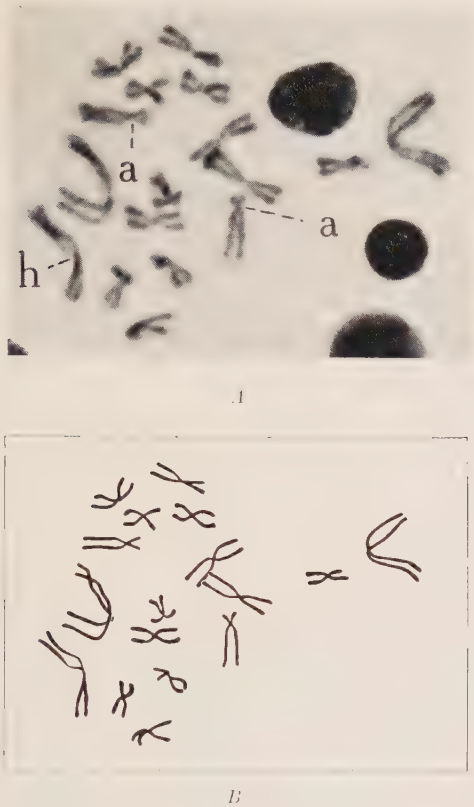
Dès 1953, j'ai exposé le cas très curieux du Microtiné, *Ellobius lutescens*[11] où les deux sexes possèdent 17 chromosomes, l'élément impair étant représenté par un petit *V* à branches égales chez le ♂ comme chez la ♀. En 1956, j'ai retrouvé 17 chromosomes chez le ♂ d'un autre Campagnol, *Microtus* (*Chilotus*) *oregoni*[12], l'élément impair étant alors un acrocentrique à région centromérique très étirée (Fig. 1). Les 16 autosomes de *M. oregoni* sont tous des *V*, à la seule exception de ceux formant la troisième paire et qui sont des acrocentriques à centromère court (pour la description détaillée et comparée des génomes d'*Ellobius* et de *M. oregoni*, voir Matthey[13]). N'ayant pu alors obtenir des sujets femelles, je ne pouvais établir le type de digamétie, qui, *a priori*, pouvait être le même que celui d'*Ellobius* ou bien relever du schéma *X–O*, *X–X*.

Dès 1953, j'ai montré que le cas d'*Ellobius* devait impliquer un mécanisme très spécial de maturation ou de fécondation préférentielle, hypothèse qui a été développée par White[14] dans un essai théorique très intéressant consacré à la discussion de mes résultats. Cet auteur suppose que l'élément impair est constitué, chez la ♀, par les deux *X* liés, chez le ♂ par l'*X* et l'*Y*, également liés. Les gamètes et les possibilités de fécondation sont alors:



[1] W. E. Agar, Quart. J. micr. Sci. *67*, 183 (1923).
[2] G. B. Sharman, A. J. McIntosh et H. N. Barber, Nature *166*, 996 (1950).
[3] G. B. Sharman et H. N. Barber, Heredity *6*, 345 (1952).
[4] R. Bovey, Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. *23*, 506 (1948).
[5] G. B. Sharman, Nature *177*, 941 (1956).
[6] R. Matthey, Exper. *10*, 464 (1954).
[7] J. Wahrman et A. Zahavi, Nature *175*, 600 (1955).
[8] R. Matthey, Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. *27*, 163 (1952).
[9] K. Oguma, Cytologia, Tokyo, Fujii Jub. Vol. 796 (1937).
[10] R. Matthey, *Les chromosomes des Vertébrés* (Ed. Rouge, Lausanne 1949).
[11] R. Matthey, Exper. *10*, 18 (1954).
[12] R. Matthey, Exper. *12*, 337 (1956).
[13] R. Matthey, Rev. suisse Zool. *64*, 39 (1957).
[14] M. J. D. White, Proc. zool. Soc. Calcutta, Mookerjee Memor. Vol. 113 (1957).

Les combinaisons diagonales seraient léthales, ce qui implique la perte de la moitié des zygotes. Chez un mammifère très fécond, le non-développement de la moitié des œufs peut ne pas être un désavantage sélectif, en raison des meilleurs soins assurés aux jeunes survivants. White a été cependant troublé par le fait que, morphologiquement, l'élément impair du ♂ et de la ♀ ne présente pas de différences, ce qu'il explique par des remaniements structuraux.



A

B

Fig. 2. *Microtus oregoni* ♀. Division myéloblastique. *aa*) la paire d'autosomes acrocentriques; *h*) hétérochromosome métacentrique. *A* Microphotographie. *B* Dessin. × 1800.

Ayant enfin obtenu, au printemps de 1958, quatre ♀♀ de *M. oregoni* (l'expression de ma gratitude va au Dr. J.W. Goertz, Museum of Natural History, Corvallis), j'ai pu étudier les cinèses de la lignée myéloblastique et des cellules folliculaires en utilisant des «squashes» de rate et d'ovaire. Le nombre diploïde est encore de 17, mais l'élément impair de la ♀ n'est pas, comme chez le ♂, un acrocentrique à centromère étiré, mais bien un métacentrique à bras sub-égaux (Fig. 2). Chacun de ces bras pourrait correspondre à un *X*, alors que, dans l'autre sexe, le bras long équivaudrait à l'*X*, le court à l'*Y*.

Les processus de la maturation et de la fécondation étant pratiquement inaccessibles, la conception de White donne une explication satisfaisante des faits et se trouve corroborée par mes observations sur *M. oregoni*. On peut cependant remarquer que le nombre de jeunes par portée (2–4 chez *Ellobius*, 3–5 chez *M. oregoni*) n'est pas inférieur à la moyenne générale des Microtinés, Peut-être, y aurait-il surproduction d'ovules? Si tel n'est pas le cas, il faudrait admettre que seuls s'attirent les gamètes à nombre de chromosomes différent (8 + 9).

J'insisterai encore sur le fait que j'ai signalé en 1952 déjà: la formation de types hétérochromosomiques aberrants n'est qu'un aspect particulier de la tendance à la réduction du nombre diploïde par la formation d'éléments métacentriques, par conséquent une illustration du principe du «changement homologue», formulé par White[15] en 1945. Un génome constitué uniquement par des métacentriques signale le terme de l'évolution chromosomique d'un groupe, encore que des remaniements ultérieurs puissent intervenir, comme la chose semble s'être produite chez *Ellobius* (Matthey[13]), de ce point de vue encore plus spécialisé que *M. oregoni*.

Enfin, l'étroite parenté entre *Ellobius* et *M. oregoni* devient évidente et cette dernière espèce est à considérer comme un vrai «missing-link».

R. Matthey

Laboratoire de Zoologie, Université de Lausanne, le 22 avril 1958.

Summary

(1) *Ellobius lutescens* and *Microtus oregoni* show the same type of sex-chromosomes. The diploid number is odd in both sexes, seventeen.

(2) The odd element of *Ellobius* is morphologically alike in the male and in the female. In *M. oregoni*, the odd element of the male is acrocentric, that of the female metacentric.

(3) Following a hypothesis of White, it seems very probable that the heterochromosome of the male is built of the primitive *Y* (short arm) and the primitive *X* (long arm) linked together. In the female of the same species (*M. oregoni*), the sex-chromosome represents both the *X* fused together.

(4) Only the half of the Zygotes may develope, the other half being lethal.

(5) The close kinship between *Ellobius* and *M. oregoni* is certain, a parallel evolution appearing as highly improbable.

[15] M. J. D. White, *Animal Cytology and Evolution* (University Press, Cambridge 1945).

Experimental Observations on Influences Exerted by the Proximal over the Distal Territories of the Extremities

The distal part of the wing anlage of chick embryos (Stages 19 to 24, according to Hamburger-Hamilton) was severed according to a plane of section parallel to the base of the bud, turned 180° round the proximo-distal axis of the bud and reimplanted *in situ*. Changes in the organogenesis of the hand steadily occurred under this condition, viz., supernumerary skeletal pieces, mostly entire fingers with metacarpal bones and phalanges, total or partial specular reduplications of the whole hand or of some of its constituents developed (Fig. 1, *A*). Such developmental changes did not take place when the severed distal part of the wing bud was reimplanted *in situ* without rotation.

The occurrence of supernumerary segments is apparently related to the developmental stage of the wing anlage at the time of grafting and to the distance of the plane of section from the base of the wing bud. Starting from stage 19, the whole free portion of the wing bud severed from its base and reimplanted *in situ* after a 180° rotation forms a normally structured wing whose ventro-dorsal axis is reversed. Up to stage 22, supernumerary skeletal segments develop if the 180° rotated part amounts to no

more than the distal half of the whole wing anlage. At the stages 23 and 24, segments in excess or reduplications form only when the 180° rotated distal part represents no more than $^1/_3$ and respectively $^1/_4$ ca. of the whole bud[1].

A *B*

Fig. 1.—*A*, embryo 505, 11 days, Lundvall staining. Distal third of the wing anlage reimplanted rotated 180° *in situ* (St. 21). *B*, embryo 515, 13 days. *Left*, distal half of the right wing anlage reimplanted rotated 180° *in situ* (St. 20); *right*, normal controlateral wing.

The consequences of the experiments are not substantially different when the 180° rotated distal part of the anlage is grafted over the cut surface of the base of the bud after removal of a large intermediary zone of the latter (Fig. 2). In this case, the presumptive territories of the hand, which lay in the rotated distal portion, are implanted over the arm district included in the proximal stump; the presumptive material of the forearm is discarded, more or less completely depending on the extent of the removed portion of the anlage and on the developmental stage of the embryo.

When the division of the distal half of the wing anlage and its reimplantation after 180° rotation is performed on embryos at stages 19 to 21, skeletal segments in excess may form also in the forearm: e.g., a thick cartilaginous element may develop between the normal radius and ulna (Fig. 1, *B*).

When the distal part of the limb bud (St. 19 to 24) is grafted to the dorsal surface of the trunk in the somite region, a normal distal part of the wing forms; its ventrodorsal axis is reversed if the graft underwent a 180° rotation round the proximo-distal axis of the wing anlage; it is not reversed when the graft did not undergo such rotation. Supernumerary segments never formed under these conditions. In the latter experiments, the distal portion of the wing anlage was laid down with its cut surface over a suitable bed prepared by removing the epidermis and a thin layer of the underlying mesenchyme which covers the somites 15 to 20; the craniocaudal axis of the graft was arranged parallel to the longitudinal axis of the embryo.

The observations reported show that: (1) supernumerary parts form from the mesenchyme of the rotated distal portion of the wing anlage reimplanted in the wing district, and (2) their development apparently depends on influences exerted by the proximal portion of the wing bud which does not undergo rotation.

The formation of segments in excess does not seem to depend on a splitting in two parts of the mesenchymal territories already segregated and determined, which could become separated from each other as a consequence of the 180° rotation of the grafted material. In this case, each one of the two parts of the bisected territory could form the entire territory through a regulative process; therefore, two distinct segments could develop instead of the normal single one. But this assumption may be disposed of for the following reasons: (1) The maps of the mesenchymal territories of the wing drawn from carbon-marking experiments show that the mesenchyme from which the hand is formed becomes segregated under the apical ectodermal ridge only after stage 22 and it is represented till stage 24 merely by a thin semilunar disto-marginal sector of the wing anlage (Amprino and Camosso[2]). Therefore, till stage 24 the whole mesenchyme from which the hand develops is completely included in the distal third or fourth of the wing anlage. (2) Carbon particles laid down on the cut surface of the proximal two-thirds (or $^3/_4$) of the wing anlage and then covered by the rotated distal third (or fourth), separate neatly the parts of the wing which develop from the graft and respectively from the rest of the bud. The position acquired by the carbon marks during later stages of development show that the normal as well as the supernumerary parts of the hand have their origin exclusively in the material of the graft. The carbon-marking experiments show also that bisection of the territories of the forearm (St. 21 to 23) or of the arm (St. 19 to 20) may occur; however, supernumerary segments develop constantly in the hand, with much less frequency in the forearm and never in the arm. (3) Supernumerary segments form from the rotated graft when the intermediary zone of the wing bud is removed before reimplantation of the distal third (or fourth) of the anlage. In this case, the proximal portion of territoires which could have been divided into two parts could not possibly participate in the development of the wing.

A *B*

Fig. 2.—14-days embryos. Distal third of the wing anlage reimplanted rotated 180° (*B*) and not rotated (*A*) after removal of a large intermediary zone of the wing bud (St. 22).

Moreover, the development of wing parts in excess does not seem to depend on influences exerted over the mesenchymal territories of the hand by the epidermal crest, which covers the distal region of the anlage and which is rotated together with the underlying mesenchyme in the experiments here reported. In fact: (1) according to Saunders and Zwilling[3], the apical crest has no in-

[1] An analogous operation was performed in chick embryos (St. 19 to 23) by J. W. Saunders and M. T. Gasseling (Anat. Rec. *121*, 360 [1955]) to study the symmetry relations of wing parts. In one case (out of 13) supernumerary segments formed in the distal part of the wing.

[2] R. Amprino and M. Camosso, Arch. Biol. *67*, 613 (1956); Roux, Arch. (1958), in press.

[3] J. W. Saunders, Anat. Rec. *105*, 567 (1949). - E. Zwilling, J. exp. Zool. *132*, 157 (1956).

fluence on the determination of the cranio-caudal axis of the wing for rotations of 180°; (2) in the present experiments, the normal qualitative and quantitative relationships between apical crest and the underlying mesenchyme remain unchanged after 180° rotation of the distal part of the wing anlage; (3) when the distal part of the anlage rotated 180° round the proximo-distal axis of the bud is grafted to the somite region, supernumerary segments do not develop; the normally structured wing which forms from the graft shows merely an inversion of its ventrodorsal axis.

In conclusion, the organogenetic changes which take place in the distal part of the wing anlage in consequence of its 180° rotation *in situ* seem to depend on influences spreading from the proximal materials of the wing bud; in other words, the development of the still undetermined (or incompletely determined) distal mesenchymal territories would be governed by the already well determined proximal territories. This assumption is further supported by the following observation: supernumerary segments develop from the 180° rotated distal part of the wing anlage when the latter is grafted over the *lateral* surface of the base of the wing bud freed of its epidermal covering, viz. over the territories of the shoulder and the proximal part of the arm.

R. Amprino and M. Camosso

Institute of Human Anatomy, Polyclinic, University of Bari (Italy), March 17, 1958.

Résumé

Les résultats de diverses séries d'expériences, exécutées sur l'ébauche de l'aile d'embryon de poulet aux stades 19–24 suivant Hamburger-Hamilton, permettent d'envisager l'existence d'influences organogénétiques provenant des territoires proximaux du mésenchyme du bourgeon qui règlent le développement des territoires distaux.

A Transplantable Fibroma of the Skin in the Newt *Triturus taeniatus*

Whereas in fishes several cases of fibroma have been described[1], we know only two in amphibians, viz. a fibroma of the mouth in the frog *Rana esculenta*[2] and a subcutaneous fibroma in the Japanese giant salamander *Megalobatrachus maximus*[3]. Concerning the development of these tumours, no data are given in the pertaining papers. We have personnally observed a multiple fibroma of the skin in six adult individuals of the newt, *Triturus taeniatus*, viz. in four males and two females from the same litter[4]. As in all cases some small or very small nodules were present in the vicinity of the tumour, which invariably consisted of one or more circumscribed tumours, the first developmental stages could be studied.

When the sections of these small and very small nodules were stained with Pap's ammoniacal silver method, as modified by Mitchell and Wislocki[5] (counterstain paracarmine), particular structures of the basal membrane were visible in the form of nodular swellings. A preliminary investigation showed that these swellings in the tumour region were strongly enlarged and would for this reason probably play a certain role in the development of this tumour.

The small nodular swellings of the basal membrane corresponded satisfactorily with the similar structures described in the newt, *Triturus viridescens*, in which an adepidermal reticular network had been observed[6]. Also in *Triturus taeniatus*, an adepidermal reticular network appeared to be present, which had a structure identical to that of the corresponding network in the skin of *Triturus viridescens*. It is composed of nodules from which radiate fine fibrillae, which are arranged tangentially to the epidermis. These nodules are probably formed from the cytoplasm of the basal cells of the epidermis and in their turn give rise to the formation of fibrils. The fibrils of the nodular swellings are closely connected with the reticulum of the dermis and with the basal cells of the epidermis.

In the development of this fibroma four stages could be distinguished, viz.:

(1) Enlargement of the nodular swellings of the adepidermal reticular network.

(2) Continued enlargement of the nodular swellings and concentration of fibroblasts in the vicinity of the swellings.

(3) Formation of new fibrils from the enlarged nodular swellings, a densely structured network thus being formed round the fibroblasts.

(4) Fusion of the concentrated masses of fibroblasts. The impression is gained that the enlarged nodular swellings must be considered as an induction centre, which, with the aid of chemical substances, cause a local concentration of the fibroblasts.

Following this investigation transplantation experiments were performed with skin fibromas of 19 tumour-bearing newts, obtained by breeding the normal animals of the first litter. In these experiments, small pieces of tissue, from the vicinity of the small tumours in which an enlargement of the nodular swellings of the adepidermal reticular network could already be expected, were transplanted in a tumour-free region of the same animal. In 13 of the 19 cases, a distinct tumour at the location of the transplantation developed after about 3 weeks, the same developmental stages being observed. The histological examination of the six negative cases revealed that the transplanted material had been almost completely resorbed.

On the strength of the rather high frequency of this fibroma of the skin in *Triturus taeniatus*, the tumour must probably be considered as a species-specific tumour according to Schlumberger[7].

A. Stolk

Histological Laboratory, Free University, Amsterdam, March 28, 1958.

Zusammenfassung

Beschreibung eines transplantierbaren Fibroms der Haut im Streifen- oder Teichmolch *Triturus taeniatus*, bei dessen Entstehung das adepidermale retikulare Geflecht eine bedeutende Rolle spielt.

[1] H. G. Schlumberger and B. Lucké, Cancer Research *8*, 657 (1948).

[2] L. Vaillant and A. Pettit, Bull. Mus. Hist. nat. Paris *8*, 301 (1902).

[3] E. Schwarz, Z. Krebsforsch. *20*, 353 (1923).

[4] A. Stolk, Proc. Akad. Sci. Amst. (in press).

[5] A. J. Mitchell and G. B. Wislocki, Anat. Rec. *90*, 261 (1944).

[6] M. Singer and J. S. Andrews, Anat. Rec. *109*, 346 (1951); Acta anat. *28*, 313 (1956).

[7] H. G. Schlumberger, Cancer Research *17*, 823 (1957).

Some Species-Specific Tumours in Fishes

Recently we have observed three species-specific tumours in fishes, viz. a chromophobe adenoma of the pituitary gland in *Mollienisia velifera*, an ocular melanoma in *Anoptichthys jordani* and a melanoma of the skin in the hybrid of *Lebistes reticulatus* and *Mollienisia sphenops*.

The chromophobe adenoma of the pituitary gland in *Mollienisia*, which occurred in six individuals of a litter of 84, was composed of chromophobe cells, which had an alveolar or strand-like arrangement. The nuclei were oval, spherical or more or less polymorphous. Owing to the enlargement of the pituitary gland, the chiasma opticum was invariably somewhat displaced in the cranial direction, which prevented it from being possibly damaged. As the tumour-bearing animals had the appearance of complete intersexes with the male colour pattern and the female shape of the body, i.e. external properties, which are undoubtly regulated endocrinically, these cases support Russfield's[1] hypothesis, according to which the chromophobe cells can, under certain stimuli, become either acidophilic or basophilic.

The ocular melanoma in *Anoptichthys*, occurring in five individuals belonging to the same litter, consisted of unilateral, dark-coloured, irregular masses at the location of the eye and was built up of a fine connective tissue stroma, melanoblasts, melanocytes, melanophores and melanophages (i.e. large melanin-laden macrophages). Extracellular as well as intracellular melanin granules were present. As transition stages were present between tumour cells devoid of melanin pigment and tumour cells with an abundance of melanin pigment, the melanin granules are formed secondarily.

The eyes of *Anoptichthys* are formed embryonally and are present after hatching as small movable organs[2]. It appears that during growth the eyes are overlapped by skin folds and tend to sink into the depth of the orbital cavities. In this process the lens and the pupillar opening may disappear and degeneration is to be observed in the retina. The eyes of *Anoptichthys* are consequently organs which are predestined to involute. In our five cases this involution was evidently accompanied by such disturbances that the pigment cells of the retina began to proliferate with development of the melanoma as the ultimate result. The melanoma of this almost pigment-free fish may have to be compared with the cutaneous melanoma, which frequently occurs especially at the tail or perineal organs of old grey horses.

The melanoma of the skin in the hybrid *Lebistes* × *Mollienisia* occurred in six cases of a litter of 14 fishes and was present as nodular, lobulated masses in the skin of the head, the trunk and the tail base, covered by a thickened epidermis. The tumour was built up of melanocytes, melanophores, melanophages and a fine connective tissue stroma. Also in this case intracellular as well as extracellular melanin pigment was present in the tumour tissue, the latter being very strongly concentrated in the surroundings of the blood vessels. One tumour was found to contain a large nodule in which a cyst was present. These melanomas were produced by a growth of melanocytes, which transform into micromelanocytes in contradistinction with the melanomas of the *Platypoecilus* × *Xiphophorus* hybrids, which are formed after a transformation of melanocytes into macromelanophores. In general the melanomas correspond satisfactorily with the melanoma described by Ghadialli and Gordon[3] in the *Lebistes* × *Mollienisia* hybrid.

A. Stolk

Histological Laboratory, Free University, Amsterdam, March 28, 1958.

Zusammenfassung

Beschreibung von drei artspezifischen Geschwülsten in Fischen: chromophobes Adenoma der Hypophyse in *Mollienisia velifera*, Melanoma der Augen in *Anoptichthys jordani* und Melanoma der Haut in Hybriden von *Lebistes reticulatus* und *Molienisia sphenops*.

[1] A. B. Russfield, *Endocrine system: adenohypophysis*, in R. C. Mellors, Ed., *Analytical Pathology* (Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York 1957), p. 293.

[2] O. Kuhn and J. Kähling, Exper. *10*, 385 (1954).

[3] F. N. Ghadially and M. Gordon, Cancer Research *17*, 597 (1957).

Kalium-Austausch zwischen Plasma und Erythrozyten beim Karzinom

Es ist wiederholt beobachtet worden, dass die roten Blutkörperchen im krebskranken Organismus eine verkürzte Lebensdauer aufweisen[1]. Aus diesen und anderen Arbeiten geht hervor, dass diese Lebensdauerverkürzung zum Teil einem im Plasma vorhandenen Faktor zuzuschreiben ist.

Zweck der vorliegenden Untersuchung war die Feststellung, ob rote Blutkörperchen aus krebskranken Organismen ihre Kalium-, Natrium- und Phosphationen mit denen des Plasmas mit normaler Geschwindigkeit austauschen oder nicht. Zu diesem Zwecke inkubierten wir a) Karzinomerythrozyten in Karzinomplasma, b) Karzinomerythrozyten in Kontrollplasma, c) Kontrollerythrozyten in Kontrollplasma und d) Kontrollerythrozyten in Karzinomplasma.

Experimentelles. Männlichen weissen Mäusen wurden 2–6 × 10^6 Zellen von Ehrlich- bzw. Ehrlich-Landschütz-Aszitestumor in physiologischer NaCl-Lösung intramuskulär ins rechte Hinterbein injiziert. Die durchschnittliche Überlebensdauer der Tiere betrug nach der Tumorinjektion 35–40 Tage. Nach verschiedenen Zeitabständen wurden Gruppen von 10 bis 15 Karzinom- und Kontrolltieren durch Punktion des retrookulären Sinus, mit Heparin als Antikoagulantium, in Nembutal-Narkose entblutet. Der niedrigere Hämatokrit des Blutes der Krebstiere wurde durch Plasmaentnahme dem des Kontrollblutes angeglichen. Vor Beginn des Experimentes wurde das Blut im Wasserbad bei 37°C 15 bis 20 min vorgewärmt. Danach wurde eine isotonische, mit K^{42} markierte KCl-Lösung (5 μc/mgK) dem Blute in solcher Menge zugesetzt, dass der Kaliumgehalt von 1 ml Blut um 66 γ (1,6 m equ. K/l) erhöht wurde. Nach sofortiger Vermischung wurde das Blut 15 min bei 37°C im Wasserbad in Luftatmosphäre langsam geschüttelt. Nach Beendigung der Inkubation wurden die Proben sofort in Eiswasser gekühlt und Doppelproben zur Bestimmung der Vollblutaktivität entnommen. Die verbleibende Inkubationsmischung wurde bei 3°C zentrifugiert und die Erythrozyten dreimal mit eiskalter physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und Doppelproben zur Messung der Radioaktivität entnommen. Die Proben wurden gewogen, mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt, gut vermischt und in einem Flüssigkeits-Szintillationszähler gemessen. Jedes Experiment wurde im Duplikat durchgeführt.

[1] J. F. Ross, C. L. Crocket und C. P. Emerson, J. clin. Invest. *30*, 668 (1951). – G. A. Hyman und J. L. Harvey, Blood *9*, 911 (1954); Amer. J. Med. *19*, 350 (1955). – A. Miller, R. B. Chodos, C. P. Emerson und J. E. Ross, J. clin. Invest. *35*, 1248 (1956). – G. Da Santo, Acta obstet. gynec. scand. *36*, 150 (1957).

Resultate. Wie Abbildung 1 zeigt, weisen die mit Ehrlich-Aszitestumor injizierten Mäuse bereits 16 Tage nach der Injektion, verglichen mit den Kontrolltieren, einen deutlich höheren Kaliumumsatz in ihren roten Blutkörperchen auf. Nach 24 Tagen beträgt der Unterschied fast das Dreifache des Normalen (Abb. 1).

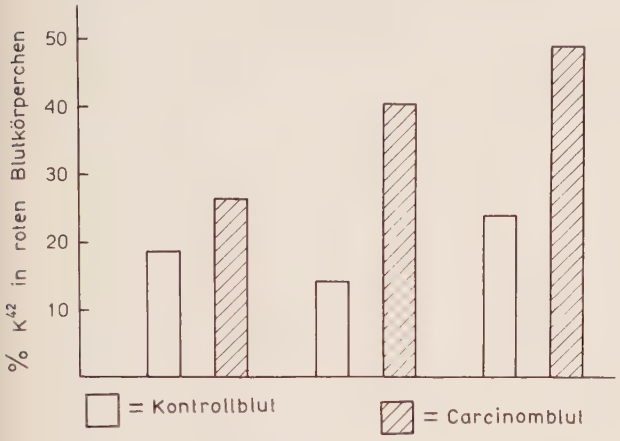


Abb. 1. Verteilung des K^{42} zwischen Erythrozyten und Plasma nach 15 min Inkubation bei 37° C.

Links: Ehrlich-Aszitestumor 16 Tage alt. *Mitte:* Ehrlich-Aszitestumor 24 Tage alt. *Rechts:* Ehrlich-Landschütz-Aszitestumor 7 Tage alt.

Beim Ehrlich-Landschütz-Aszitestumor ist der Kaliumumsatz der roten Blutkörperchen bereits 7 Tage nach der Tumorinjektion gegenüber dem Normalen verdoppelt (Abb. 1). Gleichgeartete Versuche mit P^{32}-Orthophosphat und Na^{24} ergaben negative Resultate.

Die Blutzuckerwerte waren bei Kontroll- und Karzinomtieren gleich hoch. Erhöhung der Plasma-Glukosekonzentration von 130 mg% auf 350 mg% hat keinen nennenswerten Einfluss auf den Unterschied zwischen Karzinom- und Kontrollblut. Der Kaliumumsatz im Kontrollblut erhöht sich geringfügig.

Abb. 2. – Verteilung des K^{42} zwischen Erythrozyten und Plasma nach 15 min Inkubation bei 37° C. Ehrlich-Aszitestumor 18 Tage alt.

Suspendiert man Karzinomerythrozyten in Kontrollplasma, so bleibt ihr Kaliumumsatz ebenso hoch wie in ihrem Eigenplasma. Nach Einbringen von Kontrollerythrozyten in Karzinomplasma zeigen diese jedoch einen erhöhten Kaliumaustausch (Abb. 2). Die roten Blutkörperchen waren vor Beginn des Experimentes 20 min bei 37° C in Kontakt mit dem Fremdplasma.

Flammenphotometrische Bestimmung des Kaliumgehaltes ergab 86,1 *m* equ. K/l in den Kontrollerythrozyten und 97,6 *m* equ. K/l in den Karzinomerythrozyten (8,2 *m* equ. K/l Kontroll-, 10,6 *m* equ. K/l Karzinom-Plasma).

Die Plasma-Kaliumkonzentrationen (um 10 *m* equ. K/l) wurden in unsern Versuchen durch den Zusatz der radioaktiven KCl-Lösung nur geringfügig erhöht (1,6 *m* equ. K/l). Die Untersuchungen wurden somit in einem Inkubationszeit- und Konzentrationsbereich durchgeführt, in dem nach den Ergebnissen verschiedener Autoren[2] der Kaliumaustausch weitgehend konzentrationsunabhängig ist.

Wir fanden den Kaliumumsatz der Erythrozyten einer an einem Carcinoma corporis uteri und einer an einem Carcinoma colli uteri Stadium III leidenden Patientin nicht grösser als bei Gesunden.

Diskussion. Rote Blutkörperchen von Mäusen, denen Aszitestumor intramuskulär injiziert wurde, in ihrem eigenen Plasma inkubiert, tauschen in der Zeiteinheit mehr Kalium aus als Kontrollerythrozyten. Der Unterschied wächst mit der Grösse des Karzinoms.

Die Erhöhung der Umsatzgeschwindigkeit des Kaliums ist stärker ausgeprägt beim Ehrlich-Landschütz-Aszitestumor.

Karzinomerythrozyten verbleiben auch im Kontrollplasma auf ihrem hohen Umsatzniveau. Daraus folgt, dass die Veränderung, die die roten Blutkörperchen im Krebsorganismus erleiden, irreversibel ist. Inwieweit ausserdem beim Karzinom eine abnorme Erythrozytenpopulation vorhanden ist, ist bisher ungeklärt[3].

Dass auch ein im Plasma vorhandener Faktor ausreicht, um eine Änderung des Kaliumumsatzes hervorzurufen, geht daraus hervor, dass Kontrollerythrozyten schon nach 20 min Berührung mit Karzinomplasma einen erhöhten Kaliumumsatz zeigen.

Da ein Zusammenhang zwischen dem Eindringen von Kalium und Glukose in die Erythrozyten besteht[4], untersuchten wir, ob eine Erhöhung der Glukosekonzentration des Plasmas auf über das Doppelte die Austauschgeschwindigkeit des Kaliums in den Erythrozyten zu beeinflussen vermag. Wir konnten keinen Unterschied feststellen. Es ist bekannt, dass die Erythrozyten des Karzinomblutes eine erhöhte Glykolyse aufweisen[5].

D. Lockner*

Institut für Organische Chemie und Biochemie, Universität Stockholm, 2. April 1958.

Summary

The erythrocytes of mice inoculated with Ehrlich-ascites-tumor growing in the solid form interchange their potassium ions with those of the plasma at a more rapid rate than the erythrocytes of controls. This difference is also observed when the erythrocytes of tumor mice are incubated in normal plasma.

When normal erythrocytes are incubated in plasma of tumor mice, an accelerated potassium interchange is also observed.

[2] E. J. Harris, *Transport and Accumulation in Biological Systems* (Butterworth scientific Publications, London 1956), p. 87. – J. M. Glynn, J. Physiol. *134*, 278 (1956).

[3] G. v. Ehrenstein, Acta physiol. scand. (im Druck).

[4] E. J. Harris, *Transport and Accumulation in Biological Systems* (Butterworth scientific Publications, London 1956), p. 87.

[5] J. E. Ultmann, G. A. Hyman, J. L. Harvey und A. R. Dente, Blood *12*, 1114 (1957).

* Der Dank des Verfassers gilt Herrn Prof. G. v. Hevesy für sein förderndes Interesse und der Riksföreningen mot cancer für die Unterstützung dieser Untersuchungen.

A Study of Transamination System in *Fusarium*

A wide variety of transamination reactions have been studied in various organisms since Braunstein and Kritzman[1] first discovered their importance. Cammarata and Cohen[2], Hird and Rowsell[3] and Rowsell[4] have studied the scope and location of transamination systems in various animal tissues. Feldman and Gunsalus[5] have shown that in some common bacteria transamination occurs between α-ketoglutarate and some 13 amino-acids resulting in the formation of glutamic acid. Millbank[6] demonstrated the occurrence of transaminase systems in the alga *Chlorella*, and Wilson, King, and Burris[7] in some higher plants. In fungi, Roine[8] working with *Torulopsis utilis* extracts showed that valine, leucine and isoleucine could serve as amino-group donors for α-ketoglutarate. Later Fincham[9] in *Neurospora crassa* and Bigger-Gehring[10] in *Saccharomyces fragilis* showed that some 10–11 amino-acids undergo transamination with α-ketoglutarate in cell-free extracts of the organisms.

In our laboratory, while some experiments on the nitrogen metabolism of *Fusaria* were in progress, it became necessary to know something about the scope of transamination reactions in the synthesis of glutamic acid by *Fusarium lycopersici*. The present communication embodies the results of this investigation.

Fusarium lycopersici, strains no. 5412 and 5414 were obtained from the Swiss Federal Institute of Technology (by courtesy of Dr. H. Kern). They were grown in 250 ml capacity Erlenmeyer flasks on 50 ml of a modified Richard's medium with an optimal micronutrient solution[11] without shaking. Inoculum was obtained in the form of conidia from peptone-yeast extract-agar slants. The flasks were incubated at 25°C for 72 h in dark. At the end of the incubation period, the mycelium was filtered on a Buchner funnel, washed thoroughly with glass-distilled water and sucked quite dry. After removing most of the water, the mycelium was weighed and immediately chilled to – 4°C in a glass container. After mixing alumina powder[12] (approximately twice the weight of mycelium), the whole mass was quickly ground to a fine paste in a chilled mortar after wetting with cooled *M*/15 phosphate buffer of pH 7·4. Grinding time did not exceed 5 min. The paste was extracted with 5 times its volume of phosphate buffer at about 2°C. The creamy mass was centrifuged at 2000 *g* at 2°C in a refrigerated centrifuge. The supernatant solution was dialyzed against 50 times *M*/15 phosphate buffer (pH 7·4) at 2°C for 8 h with stirring. The buffer was replaced by a new lot every 2 h. The extract so obtained contained about 0·5–0·7 mg N/ml.

For qualitative assay of transaminase activity in the extract, incubations were made in 15 ml centrifuge tubes at 37°C. The incubation mixture consisted of 0·4 ml dialyzed enzyme extract with 10 μM of amino-acid and 10 μM of α-ketoglutarate in a total volume of 1·0 ml at pH 7·4. In cases where L-isomer of the amino-acid was not available, 20 μM DL-isomer was used. 2 controls were kept with each series of experiment, one without α-ketoglutarate and one without enzyme. Incubation time was 6 h. At the end of this period, the tubes were placed in a boiling water bath for 3 min to end the reaction and later centrifuged to remove the precipitated proteins. The formation of glutamate in the incubation mixture was demonstrated with the help of paper chromatography. 1 μl of the supernatant was applied in duplicate to Whatman no. 1 filter paper and chromatographed using phenol-water (pH 12·0) and *n*-butanol, acetic acid, water (50:10:40) as solvent systems respectively. Amino-acid spots were revealed by spraying ninhydrin solution. Along with the incubation mixtures, chromatograms were also made simultaneously of different known quantities of glutamic acid and the amount of glutamate formed by transamination was roughly found by visual comparison with the spots of known glutamate concentrations. The Table gives the results of this investigation.

Tubes each containing in 1·0 ml: 0·4 ml dialyzed mycelial extract, 10 μM amino-acid and 10 μM α-ketoglutarate at pH 7·4 (*M*/15 phosphate buffer). Incubation at 37°C for 6 h. 0 = no transamination; + = about 1–2 μM glutamate; + + = 2–4 μM glutamate and + + + = 4–6 μM glutamate/ml.

Amino-acid	Concentration of glutamate
L-tyrosine	+
DL-threonine	0
L-arginine	0
L-hydroxyproline	0
L-ornithine	+
L-alanine	+ + +
DL-serine	0
L-methionine	+
L-*iso*leucine	+ +
DL-leucine	+ +
L-lysine	+
L-proline	+
L-cysteine	0
L-phenylalanine	+ +
L-tryptophane	+
L-citrulline	+ +
L-valine	+ +
DL-aspartic acid	+ + +
L-histidine	0
Glycine	0

Transamination occurred with tyrosine, ornithine, alanine, methionine, leucine, isoleucine, proline, phenylalanine, tryptophane, valine and aspartic acid out of a total of 20 different amino-acids tested. Maximum amount of transamination occurred with alanine at pH 7·4 and with aspartate at pH 8·5. The results obtained above are essentially similar to those obtained by Fincham[9] in *Neurospora crassa* and by Bigger-Gehring[10] in yeasts. Unlike these two organisms, however, ornithine in the case of *Fusarium* does not so readily undergo transamination with α-ketoglutarate.

In animals transaminases are localized in the particulate components of the cell[13]. According to the investigations of Fincham[9], however, transaminases seem to be present in the cytoplasm in *Neurospora*. To find out

[1] A. E. Braunstein and M. G. Kritzman, Enzymologia *2*, 129 (1937).

[2] P. S. Cammarata and P. P. Cohen, J. biol. Chem. *187*, 439 (1950).

[3] F. J. R. Hird and E. V. Rowsell, Nature *166*, 517 (1950).

[4] E. V. Rowsell, Nature *168*, 104 (1951).

[5] L. I. Feldman and I. C. Gunsalus, J. biol. Chem. *187*, 821 (1950).

[6] J. W. Millbank, Nature *171*, 476 (1953).

[7] D. G. Wilson, K. W. King, and R. H. Burris, J. biol. Chem. *208*, 863 (1954).

[8] P. Roine, *On the formation of primary amino-acids in the protein synthesis in yeast* (Ph. D. Thesis, Helsinki 1947).

[9] J. R. S. Fincham, Nature *168*, 957 (1951).

[10] L. Bigger-Gehring, J. gen. Microbiol. *13*, 45 (1955).

[11] B. D. Sanwal and R. S. Sandhu, Exper. *12*, 380 (1956).

[12] H. McIlwain, J. gen. Microbiol. *2*, 288 (1948).

[13] F. J. R. Hird and E. V. Rowsell, Nature *166*, 517 (1950). – E. V. Rowsell, Nature *168*, 104 (1951).

whether a similar state of affairs exists in *Fusarium*, the mycelial extract was made particle-free by either filtering it through kieselguhr[9] or spinning the extract at 19000 *g* in a refrigerated centrifuge for 30 min at 2°C. When such extracts were dialyzed and then tested for transaminase activity, essentially the same results were obtained as with ordinary extracts. This might mean that transaminases, at least in fungi, are not confined to the particulate fraction as in animal[5].

I thank Prof. P. Maheshwari, Head of the Botany Department for providing laboratory facilities.

B. D. Sanwal

Department of Botany, University of Delhi (India), April 8, 1958.

Zusammenfassung

Aus *Fusarium lycopersici* wurde ein Enzympräparat gewonnen, welches Glutaminsäure durch Transaminierung aus α-Ketoglutarsäure bildete. Von den geprüften 20 Aminosäuren dienten die folgenden als Donatoren der Aminogruppe: Tyrosin, Ornithin, Alanin, Methionin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenylalanin, Tryptophan, Valin und Asparaginsäure. Das Transaminasesystem scheint nicht an Strukturen des Cytoplasmas gebunden zu sein. Die Resultate stimmen im Prinzip mit jenen überein, welche bei *Neurospora* und bei Hefen gefunden wurden.

Specific Rotation of Phenylacetylglutamine Excreted by Cancer Patients and Normal Subjects

According to Kögl[1], tumour tissue proteins contain substantial amounts of the 'unnatural' forms of some α-amino acids, particularly D-glutamic acid. These findings have been disputed[2], but recent work of Hillmann *et al.*[3] lends further support to the possibility.

It was thought that the following procedure might throw some light on the question of the occurrence of D-glutamic acid in cancer patients.

When phenylacetic acid is ingested by humans, conjugation with glutamine occurs (other mammals utilise glycine[4]) and laevorotatory phenylacetylglutamine, $C_6H_5CONHCH(COOH)(CH_2)_2CONH_2$, is excreted in the urine[5]. If D- as well as L-glutamic acid is available for protein synthesis in cancer patients, it seemed possible that both 'natural' and 'unnatural' forms of glutamine might also occur in these patients. Thus the specific rotation of phenylacetylglutamine (PAG) excreted by cancer patients should be lower than that of the conjugate from normal subjects by an amount determined by the quantity of D-glutamine available for conjugation. Since phenylacetic acid in small doses is well-tolerated by humans[6] (PAG has been observed as a normal metabolite in humans[7]) it was decided to compare polarimetrically conjugates from normal persons and from cancer cases who ingested small amounts of phenylacetic acid.

In the experiment now reported, 2 male cancer patients and 1 male normal subject each received by mouth 1 g of phenylacetic acid (as sodium salt; 100 ml of bicarbonate solution) and the dose was repeated 3 h later. Urine was collected under toluene for 24 h from the start of the experiment. The urines were concentrated at 35–40°C *in vacuo*, acidified with sulphuric acid and extracted continuously with ethyl acetate following, with a few modifications, the method of Thierfelder and Sherwin[5]. The products, which were obtained as silky white flakes after one crystallisation from ethyl acetate, melted indefinitely at about 110°C and decomposed vigorously at ~ 120°C. Despite the similarity in melting point behaviour, nitrogen analyses (see Table, col. 3) showed that the substances were not pure PAG (for which calculated N% = 10·6), and manometric studies[8] (Table, col. 5) indicated that they contained appreciable amounts of urea. Thierfelder and Sherwin[5] obtained, in addition to pure PAG, a complex consisting of 1 mole PAG + 1 mole urea for which they recorded a specific rotation of −14°. In our experience, it was found that without taking steps to remove urea before extraction of the urine with ethyl acetate, PAG products containing up to several moles of urea could be isolated.

For the present experiment, no attempt was made to eliminate urea from the once-crystallised products, the rotations of which were measured in distilled water at ~ 20°C. For calculation of the specific rotation [α], the weight of PAG in each product was estimated by subtracting the weight of urea as determined (a) by manometry and (b) by calculation from N% (assuming that the product contained PAG and urea only; no glucuronide

[1] F. Kögl, Exper. *5*, 173 (1949).

[2] J. A. Miller, Cancer Research *10*, 65 (1950).

[3] G. Hillmann, A. Hillmann-Elies, and F. Methfessel, Nature *174*, 403 (1954); Z. Naturf. *9b*, 660 (1954); *11b*, 374 (1956).

[4] R. T. Williams, *Detoxication Mechanisms* (Chapman and Hall, London 1947), p. 107.

[5] H. Thierfelder and C. P. Sherwin, Ber. dtsch. chem. Ges. *47*, 2630 (1914); Hoppe-Seyl. Z. *94*, 1 (1915).

[6] C. P. Sherwin and K. S. Kennard, J. biol. Chem. *40*, 259 (1919).

[7] W. H. Stein, A. C. Paladini, C. H. W. Hirs, and S. Moore, J. Amer. chem. Soc. *76*, 2848 (1954).

[8] H. A. Krebs and K. Henseleit, Hoppe-Seyl. Z. *210*, 33 (1932).

Specific rotations of phenylacetylglutamine excreted by cancer patients and a normal subject

Subject	Condition	PAG complex from urine						
		Found N%	Calculated urea %	Manometric urea %	g complex/100 g water	α	$[\alpha]_D^{20}$ corrected for urea % as	
							calculated	determined manometr.
L	Myeloid leukaemia	16·5	16·4	—	2·0087	−0·302	−17·97	—
M	Teratoma of testis (operated). Extensive secondaries in para-aortic region and widespread deposits in lungs	21·1	29·2	29·4	1·9785	−0·241	−17·45	−17·45
N	Normal	17·1	18·0	20·3	1·9646	−0·285	−18·34	−18·17

or any other substances could be detected in the products used for polarimetry and each solution gave the same u.v. spectrum with absorption peaks at 252, 258, and 264 mμ). The presence of urea would be expected to have little effect on the rotation of PAG and support for this assumption was found in calculations made from [α] values given by Thierfelder and Sherwin[5] for PAG:urea (1:1) complexes. Thus for a complex which had $[\alpha]_D^{15} = -13{\cdot}97°$, the specific rotation based on the actual weight of PAG present was −17·3°.

Polarimetric measurements were made with a Hilger standard polarimeter (Model Mk. II. A) using a 1 dcm tube ($l = 1$; capacity ~ 1·25 ml; sodium light). The angular rotation was determined with reference to water blanks. The specific rotation is given by

$$[\alpha]_D^{20°} = 100 \cdot \alpha / c \cdot l \cdot d,$$

where c = g PAG/100 g water and d = density of the solution. In the present experiments the solution densities were not measured and were taken as equal to unity. The results are given in the Table.

Thierfelder and Sherwin[5] have quoted values of −17·14°, −18·1° and −18·44° for biosynthetic PAG and of −17·9° for synthetic PAG.

It would appear, therefore, that the ability of cancer patients to conjugate glutamine with phenylacetic acid is unimpaired but that little or no D-glutamine was available for the conjugation reaction. Thus, allowing for the limitations of the present method, Kögl's findings could not be confirmed.

The writer would like to suggest that some of the positive results previously obtained may have been due to unsuspected contamination of the cancer tissues with micro-organisms such as *B. subtilis*, capsules of which are known to contain appreciable amounts of D-glutamic acid[9].

I should like to thank Dr. H. Jackson of the Holt Radium Institute, Manchester for his kind cooperation which enabled this experiment to be carried out and Dr. J. W. Minnis of the Department of Biochemistry, University of Edinburgh for nitrogen analyses. The work was carried out while I was in receipt of a Melville Trust Fellowship in cancer research in the University of Edinburgh.

W. J. P. Neish

Cancer Research Unit, University of Sheffield, March 10, 1958.

Résumé

On a isolé l'acide phénylacétylglutamine de l'urine de malades atteints de cancer et d'un sujet normal qui avaient absorbé de l'acide phénylacétique. Il n'y a pas de différence entre les rotations spécifiques de ces conjugués. Les résultats montrent que l'isomère optique *non naturel* D-glutamine ne se trouve pas dans certains sujets cancéreux.

[9] C. B. Thorne, Symposium Soc. gen. Microbiol. *6* (*Bacterial Anatomy*) (1956), p. 69.

Incorporation of Adenine-4,6-C^{14} into Nucleic Acids

Bennett and Krückel[1] reported on the incorporation of adenine into nucleic acids of a variety of mouse tissues in 4–6 months old C 57 mice. The present report extends this study of adenine incorporation into ribo-(RNA) and deoxyribonucleic acid (DNA) to tissues including brain of 5–6 weeks old Webster strain albino mice. Although it was initially planned to pursue this type of investigation extensively, it has had to be discontinued. Hence, it seemed proper to report the results, at this time, in a preliminary form.

Webster strain white mice[2] weighing 16 to 18 g were injected intraperitoneally with 2·0 mg of adenine-4,6-C^{14} containing 2·2 × 10^7 dis/min in 0·5 ml of isotonic saline. After 17 h the animals were sacrificed by cervical fracture and the brain, liver, spleen, small intestine and carcass (including bone), after skinning, immediately removed. The isolation of RNA and DNA and the determination of specific activity of adenine in these fractions were carried out essentially by methods previously described[3].

Specific activity of nucleic acid adenine in various tissues of normal Webster mice*. (dis/min/μg Adenine)

Tissue	RNA	DNA	RNA:DNA
Brain	160	128	1·3
Liver	635	100	6·4
Small Intestine	1040	637	1·6
Spleen	625	456	1·4
Carcass	178	165	1·1

* Mice injected intraperitoneally with 2·0 mg of adenine-4,6-C^{14} containing 2·2 × 10^7 dis/min, and sacrificed 17 h later.

The specific activity of nucleic acid adenine in the various tissues of a mouse analyzed 17 h after administration of adenine-4,6-C^{14} is shown in the Table. The RNA:DNA ratios of these respective tissues of 4 mice similarly analyzed were consistently reproducible. The adenine incorporation into DNA was generally greater here than noted by Bennett[4] with adult C 57 mice, particularly in the liver. The much younger Webster mice employed in the present experiments were still actively growing and hence probably synthesizing DNA and incorporating adenine to a greater extent. It might be noted, in this connection, that in experiments with white rats Marrian[5] found a considerably higher uptake of adenine-8-C^{14} in the DNA of resting liver of young rats than that previously observed in experiments with older rats. The RNA:DNA ratio calculated from his results with liver of young rats was 6·1. Of considerable interest, too, was the large incorporation of the labeled adenine into the brain nucleic acids, particularly in view of the so-called blood-brain barrier[6].

Direct comparisons of the ratios observed here for the incorporation of adenine into RNA and DNA with the findings of others are rendered difficult by the wide experimental diversity in animal strains and ages, methods of administration of the labeled purine and time intervals following administration (see review by Brown and Roll[7]).

[1] E. L. Bennett and B. Krückel, Biochim. biophys. Acta *17*, 503, 515 (1955).

[2] L. T. Webster, J. exp. Med. *65*, 261 (1937).

[3] E. L. Bennett and B. Krückel, Biochim. biophys. Acta *11*, 487 (1953); *17*, 503 (1955).

[4] E. L. Bennett and B. Krückel, Biochim. biophys. Acta *17*, 503 (1955).

[5] D. H. Marrian, Biochim. biophys. Acta *14*, 502 (1954).

[6] L. Bokay, *The Blood-Brain Barrier* (Thomas, Springfield, Ill., 1956).

[7] G. B. Brown and P. M. Roll, *The Nucleic Acids*, vol. 2 (Academic Press, Inc., New York 1955), p. 368.

The experimental work was carried out in the Bio-organic Division of the University of California Radiation Laboratory during the tenure of a Fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis. The author acknowledges his gratitude to Dr. Edward L. Bennett for his counsel during these studies.

B. V. Siegel*

Department of Pathology, University of California School of Medicine, San Francisco, April 22, 1958.

Zusammenfassung

Der Umbau von 4,6-C^{14}-Adenin in Ribo- und Desoxyribonukleinsäure wurde im Gewebe von jungen Mäusen vom Stamm Webster 17 h nach intraperitonealer Injektion von markiertem Purin analysiert. Das Verhältnis der spezifischen Aktivität von RNA zu DNA variiert von 1,1 bis 1,6 für sämtliche Gewebe, ausgenommen Leber, wo ein Verhältnis von 6,4 gefunden wurde.

* Fellow of The National Foundation for Infantile Paralysis.

Do Any Morphological Pictures of Separated Excretion of Histamine and Heparine in Tissue Mast Cells Exist?

Recently a notice was published in this journal by Hill[1] on the morphological effects of histamine and mucopolysaccharide secretion in the tissue mast cells. The author assumed that the releasing of both substances proceeds in two stages: first, histamine is released and thereafter heparine. With the first stage, a change in the stainability of the granulations is involved. As this statement is of great importance in the histophysiological and histopathological interpretation of the morphological pictures, I decided to examine in a model whether or not the existence of histamine has an influence on the staining properties of heparine, and whether a destruction of the mucopolysaccharide has a releasing effect on the histamine.

We have prepared mixtures of hyaluronic acid, heparine and histamine each substance alone or two together, and have stained them with toluidine blue. The binding of histamine to any of the mucopolysaccharides examined has no influence on the staining properties of the latter.

In a second series of experiments, we have observed the process of histamine-heparine molecule destruction using hyaluronidase (Hyalase-Benger Lab. Ltd.) or heparinase prepared by us. We have stated that, despite the destruction of the heparine molecule, a significant amount of histamine is still bound to the latter. The process of releasing histamine in the mast cells may proceed another way, of course, but we suppose that a separate secretion of histamine and heparine is not probable.

T. Niebrój

Institute of Histology and Embryology, Silesian University School in Zabrze (Poland), April 23, 1958.

Zusammenfassung

An Modellpräparaten wurde festgestellt, dass die Färbbarkeit der konjugierten Heparin-Histamin-Moleküle gleich ist wie die des Heparins selbst. Der fermentative Abbau des Heparins führt nicht zur vermehrten Freisetzung von Histamin.

[1] J. Hill, Exper. *13*, 395 (1957).

Phloridzin and Red Cell Phosphate Turnover

It is well known that phloridzin and its aglycone, phloretin, inhibit the movement of sugars into erythrocytes and other cells. The action has been attributed to interference with phosphorylation but this explanation meets the difficulty that sugar phosphates do not themselves penetrate red cells easily, if at all (LeFevre[1], Wilbrandt[2]). If, however, the mechanism of sugar movement involves a series of temporary combinations with a succession of phosphate groups forming part of the cell structure then the slow movement of ready-made sugar phosphate would not be inconsistent with the requirement for particular phosphorylations to take place. If the phosphate groups of the cell are concerned with sugar movement then substances which slow sugar movement might act by reducing the rate of turnover of the phosphate. This was tested by using P 32 labelled phosphate incorporation as an indicator of the phosphate turnover.

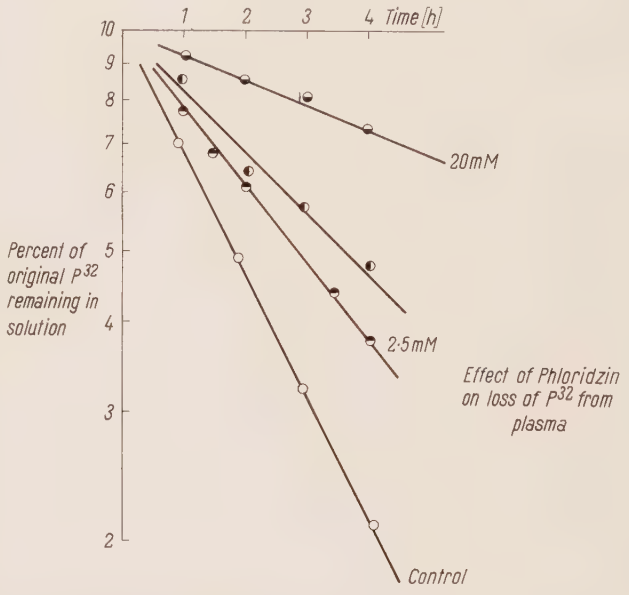


Fig. 1. – The fall of the P 32 phosphate content of plasma during incubation of the plasma with red cells, compared with and without phloridzin. In these experiments the P 32 phosphate was added to whole heparinised blood. The P 32 uptake by the cells is limited by the falling P 32 concentration in the medium.

Experiments were made either (a) by adding a trace of P 32 phosphate to whole heparinised blood and measuring the P 32 remaining in the plasma at intervals according to the method of Prankerd and Altman[3] or (b) by adding P 32 and carrier phosphate (1·2 *mM*) to a suspension medium in which the haematocrit was only 5% so that the P 32 level in the medium remained nearly constant, the activity associated with the cells being measured at intervals. Both methods showed that incorporation of the P 32 into the cells was reduced in the presence of phloridzin (Fig. 1 and 2). Using method (b) an inhibition by 0·03% w/v phloretin was found (Fig. 2). The phosphate esters and 'inorganic' phosphate of the cells after the method (a) were separated chromatographically and their radioactivities were measured (Table). Although the con-

[1] P. G. LeFevre, Symp. Soc. exp. Biol. *8*, 118 (1954).
[2] W. Wilbrandt, Symp. Soc. exp. Biol. *8*, 137 (1954).
[3] T. A. J. Prankerd and T. Altman, Biochem. J. *58*, 622 (1954).

Relative specific activity (RSA) and phosphate ester content of cells after 4 h incubation in control or phloridzin media

	Control		Phloridzin 2·5 *mM*		Phloridzin 20 *mM*	
	RSA	Quantity μgP/ml cells	RSA	Quantity μgP/ml cells	RSA	Quantity μgP/ml cells
Diphospho-glycerate	214, 250	135, 165	110, 94	150, 143	71	165
Inorganic phosphate	125, 143	35, 27	47, 36	42, 32	27	59
Adenosine triphosphate	195, 204	45, 58	56, 71	51, 46	17	36

tents of the fractions were little affected by the phloridzin the amount of P 32 incorporated was reduced, even in the 'inorganic' fraction. From these results we conclude that the red cell phosphate is in a dynamic state and that the turnover is sensitive to phloridzin and phloretin.

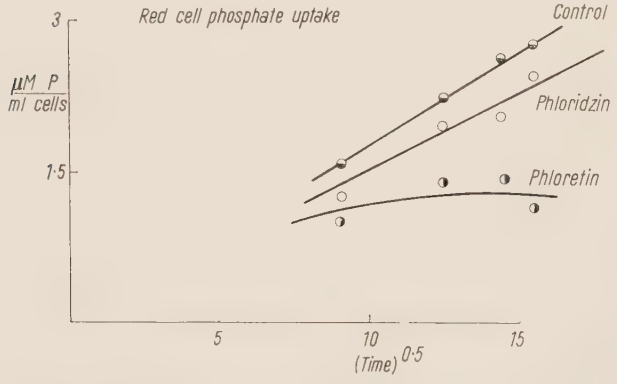


Fig. 2. – The uptake of P 32 by red cells from a large volume of medium containing 1·2 *mM* P 32 labelled phosphate. The test media contained either 6 *mM* phloridzin or 0·03% w/v phloretin. The P 32 concentration in the medium remained nearly constant.

(Time measured in minutes)

In the same experiments analyses for Na and K were carried out. These showed that no changes of Na or K content took place during 4 h exposure to phloridzin or phloretin. One sample of cells was cold stored overnight so that the Na content was 36 meq/l cells and the K content 72·5 meq/l. During subsequent incubation the Na content fell to 26 meq/l and the K content rose to 79 meq/l in both control, phloridzin, and phloretin media showing that net cation movement is unaffected. From this it appears that sufficient sugar still enters the poisoned cells to maintain that part of the metabolism which energises conversion from the low K-high Na to the high K-low Na condition.

E. J. Harris and T. A. J. Prankerd

Biophysics Department, University College London and Medical Unit, University College Hospital, Medical School, London, May 2, 1958.

Résumé

L'addition de phlorizine ou de phlorétine à une suspension d'hématies humaines ralentit l'allure d'incorporation du radio-phosphate dans les cellules. Celles-ci contiennent les mêmes quantités d'esters phosphoriques après l'action de la phlorizine. Les deux drogues ne modifient pas non plus les concentrations en Na et en K des cellules.

Lipase Activity in Insect Flight Muscle

George and Jyoti[1] showed that flying birds and bats utilize fat as the chief fuel for long and sustained muscular activity. Weis-Fogh[2] established that in the locust, during sustained flight, about two-thirds of the total energy expended is derived from fat. The importance of lipase in such muscles which utilize fat as fuel for their activity has been demonstrated by George and Scaria[3]. They have shown that the flight muscles of birds indulging in sustained flight and the heart muscle of all vertebrates possess a high concentration of lipase. They correlated the lipase concentration of the muscle with the extent of fat utilization depending on the activity of the muscle. It was therefore thought desirable to study how far this correlation could be extended to the flying insects which exhibit various degrees of muscular activity during flight.

Aqueous extracts of the flight muscles of the following insects were used for the study: the desert locust (*Schistocerca gregaria*), the dragon fly (*Pentala flavescens*) and the bumble bee (*Xylocopa* sp.). The enzyme was prepared in the following manner: Weighed quantities of the flight muscles were extracted in known quantities of distilled water in cold for 1 h by scrubbing with sand in a test tube it was then centrifuged at 2500 r.p.m. for 5 min and the supernatant used for the study. The method used for the assay was a manometric method adopted from Martin and Peers[4] using the Warburg apparatus in a bicarbonate carbon dioxide buffer system of pH 7·4 at 37°C using tributyrin as substrate. The reaction flask contained 1·5 ml 0·025 *M* bicarbonate solution, 0·5 ml distilled water and 0·5 ml of the enzyme solution in the main chamber and 0·5 ml 4% (v/v) tributyrin in 0·0148 *M* bicarbonate (emulsified by shaking with a drop of Tween 80) in the side arm, thus making up a total volume of 3 ml. The manometers and flasks were gassed for 3 min with a mixture of 95% nitrogen and 5% carbon dioxide from a cylinder. After equilibration for 10 min the substrate was tipped in and the readings taken twice at intervals of 15 min. The manometers were shaken at about 100 oscillations/min allowing an amplitude of 4–5 cm per oscillation.

Lipase activity was calculated on the basis of wet weight and also the protein concentration of the enzyme solution used, and is expressed as the number of μl of CO_2 produced/mg/30 min (Table). Protein was estimated according to the colorimetric method for total proteins[5].

[1] J. C. George and D. Jyoti, J. Anim. Morph. Physiol. *2*, 1 (1955); *4*, 2 (1957).

[2] T. Weis-Fogh, Proc. roy. Soc. [B] *237*, 640 (1952).

[3] J. C. George and K. S. Scaria, J. Anim. Morph. Physiol. *3*, 2 (1956); *4*, 2 (1957).

[4] H. F. Martin and F. G. Peers, Biochem. J. *55*, 523 (1953).

[5] P. B. Hawk, B. L. Oser, and W. H. Summerson, *Practical Physiological Chemistry* (McGraw-Hill Book Company Inc., 1954).

Lipase activity of Insect Flight Muscle*

Insects	μl Co_2/mg protein/30 min (1)	μl Co_2/mg wet weight/30 min (2)
Locust	9·5	1·35
Dragon fly	50·0	8·10
Bumble bee	9·0	0·73

* The values given are the average of five experiments.

In the Table above, the values in column 2 have to be considered as more accurate for the purpose of comparison, since the quantity of nonenzymic protein dissolved may not be the same in all cases. Considering the lipase activity of the aqueous extract of the pectoralis major muscle of pigeon prepared in exactly the same manner as above and calculated on the wet weight basis (lipase activity = 0·8 μl CO_2/mg wet weight/30 min), it is seen that the flight muscles of the locust and dragon fly have a higher lipase activity. In the case of the locust, it is known that it utilizes fat as the chief fuel during flight.

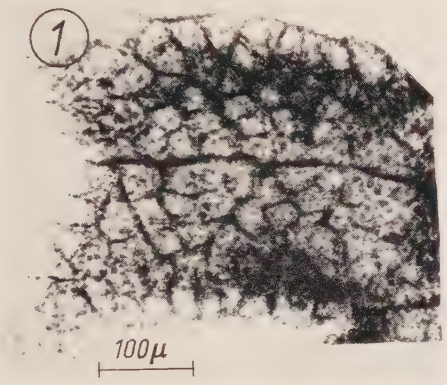


Fig. 1

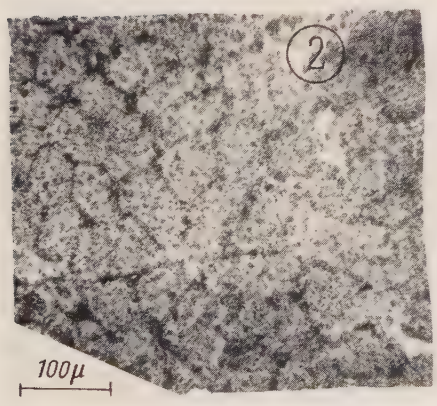


Fig. 2

Fig. 1 and 2.—Microphotographs of the T. S. of the flight muscle of the dragon fly and locust respectively, treated to show lipase activity.

But in the dragon fly the lipase concentration is 6 times that in the locust, which means that this animal also might be utilizing fat for the energy during flight. Nevertheless it is a fact that the dragon fly is a very good flier indulging in sustained flight for hours together with little rest. The low lipase concentration in the flight muscles of the locust as compared to that in the dragon fly may be explained as due to the fact that the locusts used in our study were laboratory bred animals and held in captivity throughout their life. Evidently, in such animals, the metabolic rate is lower and consequently the concentration of the various enzymes will also be at a lower level since enzymes are adaptive to a considerable extent. The presence of lipase in the flight muscle of the bumble bee also suggests the utilization of fat for muscular activity at least to a certain extent.

The lipase activity in the flight muscles of the locust and dragon fly was histochemically studied according to the Tween method of Gomori[6]. The substrate used was 'Tween 80' which is specific for true lipase. The incubation medium contained 2 ml 10% $CaCl_2$, 2 ml 5% 'Tween 80' (Atlas), 5 ml bicarbonate buffer of pH 8·4, 40 ml distilled water and a crystal of thymol as preservative. The mixture was incubated at 40°C overnight to precipitate the free fatty acid, if any, and filtered to remove the precipitate[7]. Sections of the muscle, which were prepared according to the method described by George and Scaria[8], were incubated for 8–10 h in the medium at 40°C. Boiled sections were used as control.

Figures 1 and 2 are the microphotographs of the flight muscle of the dragon fly and locust respectively, treated to demonstrate lipase activity. It could be seen that the lipase activity, as indicated by the deposition of precipitate, is higher in the muscle of the dragon fly as was also shown by the quantitative determination.

Grateful thanks are due to Dr. K. B. Lal, Plant Protection Advisor to the Government of India for arranging the supply of the locusts used in this study.

J. C. George, N. V. Vallyathan, and K. S. Scaria

Laboratories of Animal Physiology and Histochemistry, Department of Zoology, University of Baroda (India), February 28, 1958.

Zusammenfassung

Die Lipaseaktivität von wässerigen Extrakten der Libelle (*Pentala flavescens*), der Heuschrecke (*Schistocerca gregaria*) und der Hummel (*Xylocopa* sp.) wurde manometrisch festgestellt, unter Verwendung von Tributyrin als Substrat. Die höchste Lipaseaktivität wurde in der Libelle gefunden, die niedrigste in der Hummel. Der hohe Gehalt der Flugmuskulatur der Insekten an Lipase wird in Zusammenhang gebracht mit der Benutzung von Fett als Brennstoff bei dauernder Muskeltätigkeit. Die Lipaseaktivität in der Flugmuskulatur der Libelle und der Heuschrecke wird histochemisch nachgewiesen mit dem Verfahren nach Gomori, unter Verwendung von «Tween 80» als Substrat.

[6] A. G. Pearse Everson, *Histochemistry, Theoretical and Applied* (J. & A. Churchill, London 1954).

[7] J. C. George and K. S. Scaria, Nature *181*, 783 (1958).

[8] J. C. George and K. S. Scaria, Nature *181*, 783 (1958); J. Anim. Morph. Physiol. *5*, 1 (1958).

Attempt to Separate ATPase Activity from 5′-AMPdeaminase Activity of Myosin

The actin-free myosin from rabbit muscle, crystallized according to Szent-Györgyi, is a very active deaminase preparation, with the same order of activity as the deaminase isolated by Schmidt and Kalckar[1].

The separation of 5′-adenylic acid deaminase from myosin by heat treatment was first reported by Engelhardt *et al.*[2], Lyubimova and Matlina[3], and further by Lee[4] and Locker[5]. Lee[6] succeeded in crystallizing 5′-adenylic acid deaminase, starting from once-precipitated myosin by means of heat, ethanol, ammonium sulphate, salt at low concentration and calcium phosphate fractionation.

Perry [quoted by Bailey, Proteins *2*, 1004 (1954)] demonstrated in washed isolated myofibrils ATPase activity without myokinase and deaminase activity.

We tried to separate ATPase activity from 5′-AMP-deaminase activity of myosin by Ca phosphate gel fractionation.

Myosin was prepared according to Szent-Györgyi[7] and, after one or two precipitations by dilution, the crystalline myosin was suspended in water and freed from salt by centrifugation and repeated suspension in bidistilled water until a clear and very viscous solution was obtained, from which no myosin could be separated by centrifugation.

Calcium phosphate gel (two or three months old) had been prepared according to the method described by Keilin and Hartree[8]. We added to the myosin solution in water one-tenth the volume of gel (17·5 mg dry weight/ml). The suspension was stirred and after 10 min at 2°C was centrifuged. The precipitate was washed twice with one volume of 0·01 *M* sodium phosphate buffer pH 6·8, stirred and centrifuged after 10 min. The suspension was eluted with half the volume of 0·1 *M* NaCl in 0·01 *M* sodium phosphate buffer pH 6·8. The fraction obtained had not much or not at all proteins and enzymes. The elution was repeated with half the volume of 0·2 *M* NaCl in 0·01 *M* sodium phosphate buffer pH 6·8. The fraction obtained had considerable ATPase activity and only traces of deaminase activity. This 0·2 *M* NaCl fraction was also tested for the two myosin properties: (1) the capacity to combine with actin, which is evidenced by means of viscosimetric test, following Mommaerts[9]; (2) the superprecipitation as actomyosin after actin addition, following Spicer[10]. The fraction eluted by 0·1 *M* NaCl in 0·01 *M* sodium phosphate buffer pH 6·8, in experiment 4, was found to be homogeneous at the Spinco E ultracentrifuge. The third elution with 1·0 *M* NaCl in 0·01 *M* sodium phosphate buffer pH 6·8 gave the bulk of deaminase activity with the remainder of ATPase activity.

Fractionation of myosin with Calcium phosphate gel: Enzymatic activity per mg of protein and total activity (activity of the total fraction eluted from the starting solution of myosin in water).

Fraction	5′-AMPdeaminase/mg protein	Total activity	ATPase/mg protein	Total activity
Experiment 4				
Myosin in water . .	124	48,000	205	39,000
Eluted in 0·1 *M* NaCl	20	800	312	10,490
Eluted in 0·2 *M* NaCl	30	2,400	232	18,600
Eluted in 1·0 *M* NaCl	1410	48,000	208	7,110
Experiment 6				
Myosin in water . .	208	15,000	82·7	5,900
Eluted in 0·2 *M* NaCl	20	150	122·8	920
Eluted in 1·0 *M* NaCl	1350	15,200	122·8	38,000

The unity of 5′-AMPdeaminase is defined as $\Delta E_{265} = 0{\cdot}001$ in 4×10^{-5} *M* 5′-AMP buffered with 0·01 *M* citric acid-NaOH pH 6·5 at room temperature, when the reaction is of zero order. In experiment 4 ATPase was tested as specified by Perry[12] and the unity is defined as γ of $P_{inorg.}$ liberated in 5 min at 25°C. In experiment 6 ATPase was essayed as specified by Bowen and Kerwin[14] and the unity is defined as γ of $P_{inorg.}$ liberated in 5 min at 25°C.

ATPase activity was essayed at 25°C by two procedures: (1) by estimating, by the method of Allen[11], the inorganic phosphate, liberated by the enzyme in the presence of Ca^{++} under the conditions indicated by Perry[12]; (2) by estimating, by the method of Fiske and SubbaRow[13], the inorganic phosphate, liberated by the enzyme in the presence of EDTA under the conditions specified by Bowen and Kerwin[14]. This second procedure was used for inhibiting the myokinase action.

5′-AMPdeaminase was tested spectrophotometrically at room temperature in 0·01 *M* citric-acid-NaOH buffer pH 6·5 under the conditions specified by Nikiforuk and Colowick[15].

Proteins were determined spectrophotometrically by the Kalckar method[16].

Further work is now in progress. This investigation was supported by a grant from the Italian C.N.R.

E. Rocca and L. Maldacea

Institute of Zoology and Comparative Anatomy, University of Milano (Italy), March 31, 1958.

Riassunto

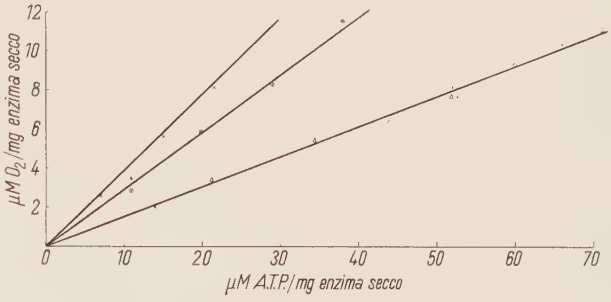
Mediante l'adsorbimento su Calcio fosfato gel e la successiva eluzione a pH 6,8 con soluzioni a forza ionica crescente si sono riuscite a separare frazioni aventi diverse attività specifiche 5′-AMPdeaminasica (massima nei campioni eluiti con 1 *M* NaCl) e ATPasica. L'attività ATPasica è associata alla proprietà della miosina di formare actomiosina.

[1] V. Sz. Hermann and G. Josepovits, Nature *164*, 845 (1949).
[2] V. A. Engelhardt, M. N. Lyubimova, T. V. Venkstern, M. Y. Timofeeva, and Y. B. Babskaya, Doklady Akad. Nauk SSSR. *85*, 397 (1952).
[3] M. N. Lyubimova and E. S. Matlina, Doklady Akad. Nauk SSSR. *94*, 927 (1954).
[4] Y. P. Lee, Fed. Proc. *15*, 298 (1956).
[5] R. H. Locker, Biochim. biophys. Acta *20*, 514 (1956).
[6] Y. P. Lee, J. biol. Chem. *227*, 987 (1957).
[7] A. Szent-Györgyi, Stud. Inst. med. Chem. Univ. Szeged *3*, 76 (1943).
[8] D. Keilin and E. F. Hartree, Proc. roy. Soc. London [B] *124*, 397 (1937–38).
[9] W. F. H. M. Mommaerts, Exp. Cell Res. *2*, 133 (1951).
[10] S. S. Spicer, J. biol. Chem. *190*, 257 (1951).
[11] R. J. L. Allen, Biochem. J. *34*, 858 (1940).
[12] S. V. Perry, in Colowick-Kaplan, *Methods in Enzymology*, vol. II (New York 1955), p. 582.
[13] C. H. Fiske and Y. SubbaRow, J. biol. Chem. *81*, 629 (1929).
[14] W. J. Bowen and T. D. Kerwin, J. biol. Chem. *211*, 237 (1954).
[15] G. Nikiforuk and S. P. Colowick, in Colowick-Kaplan, *Methods in Enzymology*, vol. II (New York 1955), p. 469.
[16] H. M. Kalckar, J. biol. Chem. *167*, 461 (1947).

I processi di attivazione dei sistemi enzimatici ossidasici dei grassi. I

Leloir e Munoz[1], Lehninger[2], Grafflin e Green[3] riuscirono a preparare dai tessuti animali un sistema privo di cellule integre in grado di ossidare gli acidi grassi. Il sistema è reso attivo dall'aggiunta di A.T.P. il quale agisce fornendo energia per la sintesi degli acil-coenzima-A. La contemporanea ossidazione di un acido del ciclo di Krebs provoca un aumento dell'ossidazione a carico dell'acido grasso. In un primo tempo questo fatto venne interpretato nel senso che gli acidi del ciclo di Krebs attraverso il processo della fosforilazione ossidativa mantengono nel sistema un elevato livello di A.T.P. – Però numerosi dati sperimentali[4] sembrano dimostrare che l'A.T.P., pur essendo necessario, non è sufficente per mantenere una elevata attività del sistema enzimatico ossidasico dei grassi. Con le ricerche riferite in questa nota si è determinata l'azione esercitata dall'A.T.P. e da alcuni acidi del ciclo di Krebs su tale sistema preparato dal fegato di cavia. In particolare si è determinato se esistesse un rapporto tra: *a*) quantità di A.T.P. aggiunto direttamente al sistema ed intensità della sua attività; *b*) quantità di A.T.P. sintetizzato attraverso la fosforilazione ossidativa degli acidi del ciclo di Krebs ed intensità di azione del sistema enzimatico ossidasico dei grassi.

Metodi. Il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi è stato preparato dal fegato di cavia mediante il metodo di Lehninger[2] e l'attività è stata dedotta dalla quantità di O_2 consumata durante l'ossidazione dell'acido caprilico misurata con la tecnica manometrica di Warburg. Gli attivatori del sistema erano rappresentati da: A.T.P., A.T.P. in presenza di malonato, A.T.P. in presenza di fumarato e malonato, α-chetoglutarato in presenza di malonato. Il fumarato è stato impiegato in associazione coll'A.T.P. in quanto da solo è inattivo; l'α-chetoglutarato invece risulta attivo anche quando l'A.T.P. non viene aggiunto. Per ogni prova si istituivano tre manometri: 1° Nel primo si poneva il solo estratto enzimatico: in questo si misura un consumo di O_2 di una certa intensità dovuto alla ossidazione di metaboliti, diversi dall'acido grasso, presenti nel sistema enzimatico. A tale ossidazione è legata la sintesi di A.T.P. che è stata calcolata considerando un P/O uguale a 3. Le prove eseguite con acido malonico avevano lo scopo di diminuire l'intensità di tale ossidazione. 2° Nei casi in cui si impiegava, come attivatori, fumarato o α-chetoglutarato, sinistituiva un secondo manometro nel quale al sistema enzimatico veniva aggiunto il solo attivatore in assenza del substrato specifico, acido caprilico. In tale manometro si misurava quindi l'intensità di ossidazione del solo attivatore, acido del ciclo di Krebs, e da questa si risaliva alla quantità di A.T.P. sintetizzato calcolando per il fumarato un P/O uguale a 3. Per l'α-chetoglutarato si sono presi in considerazione due diversi P/O, 3 e 4, in quanto, in questo caso, l'intensità di fosforilazione che si accompagna all'ossidazione dell'α-chetoglutarato non è stata ancora stabilita con certezza (Slater e Holton[5]). 3° Nel terzo manometro il sistema enzimatico veniva posto a contatto sia con gli attivatori sia con il substrato specifico (acido caprilico) e dal consumo di O_2 di questo, per differenza coi valori registrati negli altri due, veniva calcolata l'intensità di ossidazione del solo acido caprilico. Nel grafico si è rappresentata l'intensità di ossidazione dell'acido caprilico in rapporto alla quantità di A.T.P. presente nel sistema, calcolata mediante la somma dell'A.T.P. direttamente aggiunto con quello sintetizzato tramite la fosforilazione ossidativa determinato con le modalità su descritte.



Le μM di A.T.P. segnate in ascissa provengono da:

- ∘ A.T.P. aggiunto direttamente al sistema + A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa basale.
- • A.T.P. aggiunto direttamente al sistema + A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa basale in presenza di malonato.
- ▵ A.T.P. aggiunto direttamente al sistema + A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa basale + fumarato.
- ○ A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa α-chetoglutarato (calcolando P/O = 4).
- \+ A.T.P. proveniente da fosforilazione ossidativa α-chetoglutarato (calcolando P/O = 3).

Risultati e discussione. I risultati esposti nel grafico dimostrano che nei casi in cui l'attivatore è rappresentato dall'A.T.P. o dall'acido fumarico vi è una diretta proporzionalità tra la quantità di A.T.P. presente nel sistema enzimatico e l'intensità con cui si svolge il processo ossidativo a carico dell'acido grasso. In questo caso quindi l'acido fumarico sembra agire in quanto carica A.T.P. per il processo della fosforilazione ossidativa. Invece l'azione attivatrice dell'acido α-chetoglutarico è molto più intensa di quanto avrebbe dovuto essere qualora si fosse svolta tramite l'A.T.P. sintetizzato durante l'ossidazione dell'α-chetoglutarico stesso. Vi è però sempre un rapporto diretto tra intensità di ossidazione dell'α-chetoglutarato e l'intensità della sua azione attivatrice. I dati su esposti sembrano far escludere che l'α-chetoglutarato agisca tramite l'A.T.P.

M. Sacchetto e C. R. Rossi

Istituto di Chimica biologica, Università di Padova (Italia), il 8 aprile 1958.

Résumé

Dans le foie de cobaye, l'activité du système enzymatique oxydasique des acides gras est en rapport avec la quantité d'A.T.P. qui y est directement introduit ou qui se forme par l'oxydation de l'acide fumarique. Tandis que l'acide α-cétoglutarique active l'oxydation des acides gras beaucoup plus fortement que l'A.T.P. formé par l'oxydation du même acide α-cétoglutarique.

[1] L. F. Leloir e J. M. Munoz, Biochem. J. *33*, 734 (1939); J. biol. Chem. *147*, 353 (1943); *153*, 53 (1944).

[2] A. L. Lehninger, J. biol. Chem. *161*, 437 (1945).

[3] A. L. Grafflin e D. E. Green, J. biol. Chem. *176*, 95 (1948).

[4] E. Knox, B. N. Noyce e V. H. Auerbach, J. biol. Chem. *176*, 117 (1948). – R. F. Witter, E. H. Newcomb e E. Stotz, J. biol. Chem. *200*, 703 (1953). – E. P. Kennedy e A. L. Lehninger, *Biochemical problems on phosphorus metabolism*, vol. II (J. Hopkins, 1952), p. 253.

[5] E. C. Slater e F. A. Holton, Biochem. J. *56*, 28 (1954).

Influenza dell'arseniato sui processi di attivazione dei sistemi enzimatici ossidasici dei grassi. II

I risultati della nota precedente[1] tendevano a dimostrare che l'α-chetoglutarato attiva i sistemi enzimatici ossidasici dei grassi indipendentemente dalla sua proprietà di sintetizzare A.T.P. tramite il processo della fosforilazione ossidativa. Ora, posto che il processo di attivazione consiste nel fornire energia per la sintesi degli acil-coenzima-A, si deve pensare che l'α-chetoglutarato – il quale di per se, a differenza dell'A.T.P., non contiene legami energetici – per esplicare la sua azione attivatrice deve dare origine, attraverso alla sua ossidazione, alla formazione di sostanze col legami a livello energetico tale da poter essere utilizzati per la sintesi degli acil-coenzima-A. Tale sostanza potrebbe essere rappresentata dal succinil-coenzima-A che si forma secondo la seguente reazione (1):

(1) α-chetoglutarato + D.P.N.$^+$ + CoA → Succinil-CoA + D.P.N.H. + H^+ + CO_2

e il succinil-coenzima-A potrebbe trasferire direttamente il CoA all'acido grasso (Green[2], Green, Goldmann, Mii, Beinert[3], Sanadi e Littlefield[4], Stern e Del Campillo[5]). Non si può però escludere che il succinil-CoA agisca tramite il G.T.P. che si forma secondo la seguente reazione (2):

(2) Succinil-CoA + G.D.P. → Succinato + G.T.P. + CoA.

Con le ricerche qui esposte si è partiti dal fatto che in presenza di arseniato il succinil-coenzima-A subisce un processo di arsenolisi (Sanadi, Gibson, Ayengar e Ouellet[6]; Sanadi, Gibson, Ayengar e Jacob[7]) secondo la seguente reazione (3):

(3) Succinil-CoA $\xrightarrow[\text{Arseniato}]{\text{Enzima A}}$ Succinato + CoA

e si è voluto determinare l'eventuale influenza esercitata dall'arseniato sull'azione attivatrice esplicata dall'α-chetoglutarato sull'ossidazione degli acidi grassi.

Metodi. Il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi è stato preparato dal fegato di cavia mediante il metodo di Lehninger[8] e l'attività è stata dedotta dalla quantità di O_2 consumata durante l'ossidazione dell'acido caprilico, misurata secondo la tecnica manometrica di Warburg (vedi Tabella, colonna A). L'acido acetacetico formatosi è stato determinato con il metodo di Greenberg e Lester[9] modificato da Barkulis e Lehninger[10]: dalla quantità di acido acetacetico trovato si è calcolata la quantità di O_2 teoricamente occorsa per la sua formazione (vedi Tabella, colonna B). Nella colonna C della Tabella si è espressa la quantità di O_2 consumata dal sistema enzimatico per l'ossidazione del solo attivatore, succinato o α-chetoglutarato, in assenza dell'acido caprilico.

μM di O_2 consumate per l'ossidazione dell'acido caprilico nello spazio di tempo di 20 min da 100 mg di estratto enzimatico secco. – Caprilato $0{,}7 \times 10^{-3}$ A.T.P. 2×10^{-3}. *M*. Succinato e α-chetoglutarato $1 \times 10^{-3} M$. Mg^{++} 1×10^{-2}. Tampone-Na-K pH 7,4 cm^3 1,4. Preparato enzimatico secondo Lehninger cm^3 0,2.

Attivatori	A O_2 totale consumato dal sistema enzimatico	B O_2 impiegato per la formazione di ac. acet.	A–B	C O_2 impiegato p. l'ossidaz. del sol attivatore
A.T.P.	9,55	6,55	3,00	—
A.T.P. + AsO_4^{---} (20 μM)	9,45	6,90	2,55	—
A.T.P. + AsO_4^{---} (40 μM)	10,00	7,05	2,95	—
A.T.P. + succinato . . .	10,20	2,70	7,50	10,50
A.T.P. + succinato + AsO_4^{---} (20 μM) . .	10,50	3,00	7,50	10,65
A.T.P. + succinato + AsO_4^{---} (40 μM) . .	11,05	2,80	8,25	9,80
α-chetoglutarato	12,20	8,50	3,70	4,40
α-chetoglutarato + AsO_4^{---} (20 μM) . .	9,80	5,15	4,65	4,15
α-chetoglutarato + AsO_4^{---} (40 μM) . .	0,00	0,00	0,00	4,55

Risultati e discussione. Dai risultati esposti nella tabella si può ricavare che l'arseniato inibisce l'attività del sistema enzimatico ossidasico dell'acido caprilico soltanto nel caso in cui il processo dell'attivazione è esercitato dall'α-chetoglutarato, senza modificare in alcun modo l'intensità di ossidazione di questo. Tali dati confermano che l'azione attivatrice dell'α-chetoglutarato non può essere riferita alla sua proprietà di sintetizzare A.T.P. tramite il processo della fosforilazione ossidativa; dimostrano inoltre che la scissione arsenolitica del succinil-coenzima-A derivato dall'ossidazione dell'α-chetoglutarato, inibisce l'azione attivatrice da questo esercitato sull'ossidazione degli acidi grassi. In altra nota (Rossi[11]) si è dimostrato che tale azione attivatrice viene inibita anche nei casi in cui è impedita la scissione del succinil-coenzima-A. In definitiva si può concludere che nel fegato di cavia: 1° L'azione attivatrice dell'α-chetoglutarato è legata alla scissione del succinil-CoA che si forma dalla sua ossidazione; 2° che tale scissione deve svolgersi normalmente secondo la reazione (2). Tutto questo fa supporre che l'azione attivatrice dell'α-chetoglutarato debba essere riferita alla formazione di G.T.P.

C. R. Rossi e M. Sacchetto

Istituto di Chimica biologica, Università di Padova, il 8 aprile 1958.

Résumé

Dans le foie de cobaye l'arseniate inhibe l'action activatrice provoquée par l'acide α-cétoglutarique sur le système enzymatique oxydasique des acides gras, tandis qu'il ne modifie pas l'action activatrice due à l'A.T.P.

[1] M. Sacchetto e C. R. Rossi, Exper. *14*, 253 (1958).
[2] D. E. Green, Science *115*, 661 (1952).
[3] D. E. Green, D. S. Goldmann, S. Mii e H. Beinert, J. biol. Chem. *202*, 137 (1953).
[4] D. R. Sanadi e J. W. Littlefield, J. biol. Chem. *201*, 103 (1953).
[5] J. R. Stern e A. Del Campillo, J. Amer. chem. Soc. *75*, 2277 (1953).
[6] D. R. Sanadi, D. M. Gibson, P. Ayengar e C. Ouellet, Biochim. biophys. Acta *13*, 146 (1954).
[7] D. R. Sanadi, D. M. Gibson, P. Ayengar e M. Jacob, J. biol. Chem. *218*, 505 (1956).
[8] A. L. Lehninger, J. biol. Chem. *161*, 437 (1945).
[9] L. A. Greenberg e D. Lester, J. biol. Chem. *154*, 177 (1944).
[10] S. S. Barkulis e A. L. Lehninger, J. biol. Chem. *199*, 339 (1951).
[11] C. R. Rossi, G. Biochim. *6*, 331 (1957).

Tierexperimentelle Studien über die Alkoholverbrennung

Nach Bonnichsen und Wassen[1] enthält die menschliche Leber etwa 1,5 g ADH; diese Menge ist bei voller Absättigung mit Cozymase (DPN) imstande, pro Stunde 8–9 g Alkohol zu oxydieren. Wenn daher eine bestimmte, äusserst geringe Konzentration im Organismus nicht unterschritten wird, ist der Verbrennungsvorgang konzentrationsunabhängig. Nimmt man an, dass auch die Katalase (Chance[2]) eine Rolle bei der Alkoholoxydation spielt, so wäre dadurch zwar ein konzentrationsabhängiger Vorgang mit eingeschaltet; es ist aber zu bedenken, dass die Katalase schon rein theoretisch nur für die Beherrschung von höchstens 20% des Alkoholumsatzes in Frage kommt und dass von diesem Anteil noch der unverändert ausgeschiedene Alkohol abzuziehen ist (Theorell und Bonnichsen[3]; Bartlett[4]).

Ob die Alkoholverbrennungsgrösse von der herrschenden Konzentration abhängig oder unabhängig ist, versuchte man durch das Studium der Eliminationskurven im Belastungsversuch zu klären. Fast alle Autoren fanden die Blutalkoholkurve bei Tieren (Hunden, Katzen, Ratten, Mäusen, Kaninchen, Meerschweinchen, Hühnern) und beim Menschen im postresorptiven Anteil linear. Widmark[5] und später Bernhard und Goldberg[6] haben durch Interpolierung der experimentell gewonnenen Kurvenpunkte in die Gleichungen für eine Gerade und für eine Exponentialkurve festgestellt, dass die mittlere Abweichung von der Exponentialkurve gross, die von der Geraden ganz gering ist. Sieht man sich aber alte abgebildete Blutalkoholkurven, bzw. die entsprechenden Tabellen an, dann fällt schon bei den 50 Jahre alten Bildern von Gréhant[7] (Hunde) ein leicht asymptotischer Verlauf auf; auch Widmark[5] hat derartige Kurven mitgeteilt, besonders in den niedrigen Konzentrationsbereichen. Schon vor Widmark[5] beobachteten Völtz und Dietrich[8] (ebenfalls an Hunden) ein Absinken des Alkoholeliminationsfaktors mit zunehmender Versuchsdauer. Ganz dezidiert behaupteten dann später Haggard und Greenberg[9] bei intravenöser Zufuhr einen exponentiellen Verbrennungsverlauf. Sie haben sich aber insofern getäuscht, als sie die Dauer des Diffusionsvorgangs unterschätzten, innerhalb dessen selbstverständlich die «Abbau»-Kurve steiler verläuft. Es ist ihnen auch nicht aufgefallen, dass sie parallele Kurven bei um den Faktor 10 veränderter Zufuhrgrösse gefunden haben, was ja bei Konzentrationsabhängigkeit der Verbrennung nicht möglich wäre. Le Breton[10] hat lineare Verbrennung bei Mäusen und Ratten, konzentrationsabhängige bei Meerschweinchen, Hühnern und Kaninchen beschrieben. An Katzen stellte Eggleton[11] eine Verbrennungssteigerung von 30% bei Anstieg des Blutalkoholgehaltes um 1‰ fest, was von Newman *et al.*[12] bestätigt wurde.

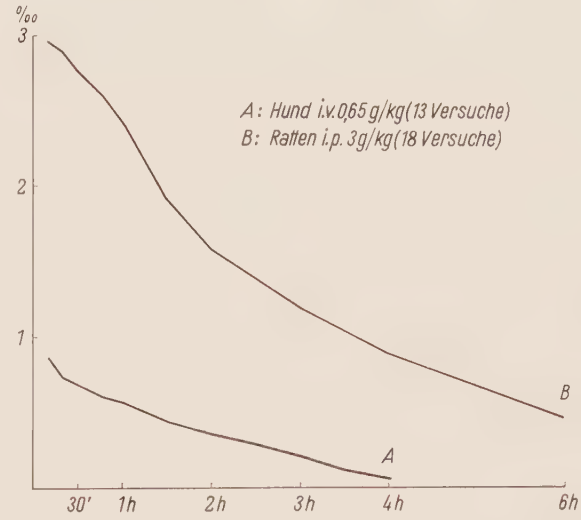


Abb. 1. Alkoholausscheidungskurven beim Hund (*A*) und bei der Ratte (*B*)

Die Änderung der Eliminationsgeschwindigkeit tritt allerdings nur bei groben Konzentrationsdifferenzen auf. Man hat angenommen (neuerdings wieder Marshall und Fritz[13]), dass dabei die veränderte Abatmung eine Rolle spielt.

Bemerkenswert ist, dass zwar sehr viele Autoren um so steilere Kurven bekommen haben, je höher die erreichte Blutalkoholkonzentration war, dass jedoch die Kurven an sich fast immer linear blieben. Newman[12] hat die Theorie aufgestellt, dass eine einmal durch hohen Blutspiegel in Gang gebrachte rasche Verbrennung auch noch anhält, wenn die Blutalkoholkonzentration niedriger geworden ist. Am Menschen konnte dieser «conditioning»-Effekt bisher nicht bestätigt werden (Mailänder[14]).

Wir haben selbst im Laufe der Jahre mehrere Beobachtungen über das Ansteigen des Wertes Beta bei Erhöhung der Alkoholzufuhr gemacht; der exakte Nachweis setzt aber voraus, dass die Resorption möglichst ausgeschaltet und die Diffusion verkürzt wird: deshalb sind alle oralen Versuche nicht genügend beweiskräftig. Im intravenösen und intraperitonealen Tierversuch ergab sich beim Hunde eine nach Abschluss der Diffusion lineare Kurve. Die Verbrennung pro Stunde und pro kg Gewicht liegt im Mittel bei 149 mg, das ist eine sehr gute Übereinstimmung mit den massgebenden gleichartigen Versuchen von Gréhant[7], Mellanby[15], Widmark[5] und Newman[12], die alle zwischen 140 und 150 mg gefunden haben (Abb. 1).

Die obere Kurve der Abbildung 1 stellt die Mittelwerte aus 18 Versuchen an Ratten dar. Diese Versuche wurden von Meyer[16] unter einer ganz anderen Fragestellung ausgeführt, nämlich zum Studium der Alkoholverteilung im Gehirn. Deshalb haben wir den Alkohol auch nicht intravenös, sondern intraperitoneal gegeben. Man sieht an der

[1] R. K. Bonnichsen und A. M. Wassen, Arch. Biochem. *18*, 361 (1948), zit. n. Jacobsen, Nature *169*, 645 (1952).

[2] B. Chance, Acta chem. scand. *1*, 236 (1947).

[3] H. Theorell und R. K. Bonnichsen, Acta chem. scand. *5*, 1105 (1951).

[4] G. R. Bartlett, J. Stud. Alc. *13*, 583 (1952).

[5] E. Widmark, Biochem. Z. *218*, 445 (1930); *Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung* (Berlin/Wien 1932).

[6] C. G. Bernhard und L. Goldberg, Acta med. scand. *86*, 152 (1935).

[7] N. Gréhant, C. r. Soc. Biol., Paris *55*, 225, 376, 802, 1264 (1903); J. Physiol. Path. gén. *9*, 978 (1907).

[8] W. Völtz und W. Dietrich, Biochem. Z. *40*, 15 (1912); *68*, 118 (1915).

[9] H. W. Haggard und L. A. Greenberg, J. Pharmacol. *52*, 150 (1934).

[10] E. Le Breton, C. r. Soc. Biol., Paris *122*, 330, 561, 564, 565 (1936).

[11] M. Eggleton, J. Physiol. *98*, 228, 239 (1940); *101*, 172 (1942).

[12] H. Newman und W. Cutting, J. Pharmacol. *54*, 371 (1935). – H. Newman, A. J. Lehmann und W. Cutting, J. Pharmacol. *61*, 58 (1937). – W. Cutting, H. Newman und J. Yee, J. Physiol. *110*, 18 (1949).

[13] E. K. Marshall und W. F. Fritz, J. Pharmacol. *109*, 431 (1953).

[14] K. Mailänder, Diss. Heidelberg 1954.

[15] E. Mellanby, Brit. med. Res. Counc. Spec. Rep. Ser. 31 (1919).

[16] K. H. Meyer, Diss. Bonn 1957.

Abbildung 2, dass es aus der Bauchhöhle zu einer sehr raschen Resorption kommt, was schon Le Breton[10] bekannt war. Nach 4 min ist die höchste Blutalkoholkonzentration erreicht, die Resorption dauert aber mindestens bis zur 20. Minute an. Es darf bemerkt werden, dass man so exakte Minutenwerte nur im Dekapitationsversuch erhält.

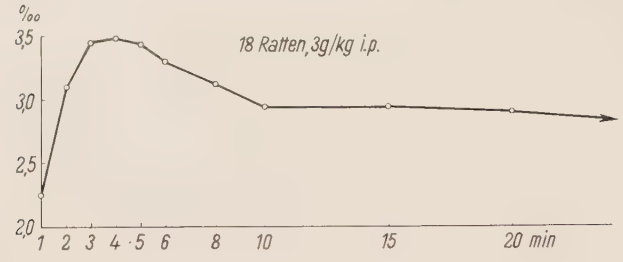


Abb. 2. Die Resorptionsphase bei intraperitonealer Alkoholzufuhr 18 Ratten, Dekapitationsversuche, Carotisblut.

Der Verlauf der oberen Kurve auf Abbildung 1 lässt den Unterschied zu den Hundeversuchen leicht erkennen. Bei den Ratten erfolgt die Senkung des Blutalkoholgehaltes offensichtlich nicht linear. Trägt man die Kurvenpunkte logarithmisch auf (Abb. 3), dann zeigt sich, dass eine Exponentialkurve vorliegt. Die Verbrennungsgeschwindigkeit ist proportional der jeweiligen Blutalkoholkonzentration: $\beta_t : c_t$ ist konstant und ergibt für die letzten 4 h des Versuches die Werte 41, 44, 42 und $42 \cdot 10^{-4}$.

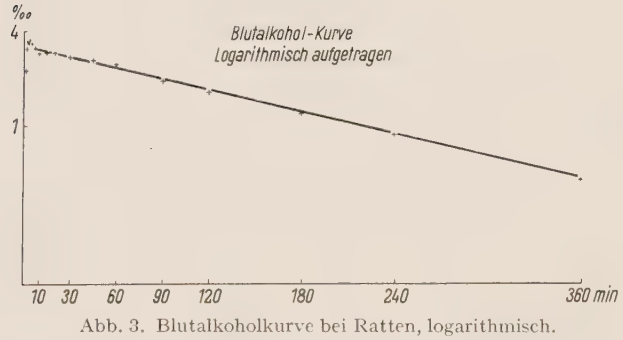


Abb. 3. Blutalkoholkurve bei Ratten, logarithmisch.

Die 20 Jahre alte Behauptung von Le Breton[10], dass Säugetiere grundsätzliche Unterschiede im Alkoholumsatz zeigen, ist also zu bestätigen. Halten wir an der fermentkinetischen Theorie des Äthanolabbaues fest, dann liegt die Erklärung für die Umsatzunterschiede nahe: der Typus des Verbrennungsverlaufes könnte eine Beziehung zur relativen Menge der zur Verfügung stehenden ADH haben; je geringer die Fermentmenge, bis zu um so niedrigeren Konzentrationen hinunter wäre eine lineare Verbrennung (stetige völlige Ausnützung der gesamten ADH) zu erwarten; je höher die ADH-Menge ist, desto weiter hinauf in die höheren Konzentrationen reicht die exponentiell verlaufende Kurve. Es müssten also die Tiere mit einem hohen Eliminationsfaktor mehr zur exponentiellen, die mit einem niedrigeren Faktor zur linearen Verbrennung neigen. Wir fanden tatsächlich bei der Ratte, mit ihrem fast an der Spitze stehenden Eliminationsfaktor (siehe Elbel und Schleyer[17]), dass die Verbrennungsgeschwindigkeit mit dem «Angebot» steigt, und konnten die alte Erfahrung bestätigen, dass der nur relativ langsam den Alkohol verbrennende Hund schon bei geringen Blutalkoholwerten «ausgelastet» ist. Die experimentell gefundene Tatsache, dass bei Menschen ein Sinken des Alkoholumsatzes erst bei ausserordentlich niedrigem Blutalkoholspiegel zu erwarten ist, bei einer Konzentration, die forensisch nicht mehr interessiert, lässt sich, wie man sieht, schon rein theoretisch aus unseren Beobachtungen ableiten.

H. Elbel

Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Bonn, 24. April 1958.

Summary

While in dogs intravenously administered alcohol is eliminated as a straight function of time, it was found that the combustion of alcohol, when given intraperitoneally in rats, depends on the concentration at a given time. Since the dog—like man—belongs to a species with a slow alcohol combustion, while the rat (together with the mouse) has the highest metabolic velocity, it is supposed that the supply of alcohol dehydrogenase might determine not only the metabolic velocity as such but also the rhythm of alcohol combustion: when the ADH supply is low, the combustion capacity limit will be reached at low blood alcohol concentrations and the elimination curve will become linear.

[17] H. Elbel und F. Schleyer, *Blutalkohol* (Thieme, Stuttgart 1956), p. 60.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Chromosomes, Sex-Cells and Evolution in a Mammal

Par Ph. V. Tobias

420 pages et 83 figures
(Percy Lund, Humphries and Co., London 1956)
£ 3/-/-

L'auteur, professeur à l'Université de Witwaterstrand, présente dans ce livre, préfacé par Th. Dobzhanski, une quantité considérable de données relatives à la spermatogénèse et aux chromosomes des Mammifères. Partant de ses propres investigations sur un Rongeur, *Tatera brantsii draco*, le Dr Tobias réexamine tout le cycle spermatogénétique puis se livre à une analyse cytologique des constituants du génome. Une grande partie de l'ouvrage est consacrée à la compilation des formules chromosomiques chez les Mammifères: enfin, nous trouvons une esquisse présentant des idées souvent intéressantes sur la nature de l'évolution chromosomique.

Il est regrettable que l'auteur ait utilisé une technique insuffisante et je pense que c'est à cette raison qu'il faut attribuer la divergence qui existe entre ses résultats et les miens: si Tobias compte 34 chromosomes chez *Tatera*, j'ai fixé le nombre diploïde de cette espèce à 44 (Matthey, 1954). Il est dès lors difficile d'attacher beaucoup de poids aux observations faites chez ce Rongeur. D'une manière générale, nous dirons ceci: le Dr Tobias a le grand mérite d'attirer l'attention sur les problèmes si intéressants de l'évolution chromosomique des Mammifères mais il ne dispose pas de la maîtrise technique indispensable à qui veut apporter du nouveau dans ce domaine. D'autre part, l'évaluation critique des travaux qu'il analyse et le choix de ceux-ci me semble laisser souvent à désirer.

R. Matthey

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Der Optimalfarbzug als Konzentrationsreihe eines idealen Farbstoffes

Von R. Rometsch, M. Thürkauf und K. Miescher, Basel*

Im Laufe unserer Vorarbeiten zur Gewinnung eines symmetrisch gestuften Farbkreises wählten wir eine Reihe von Farbstoffen aus, die besonders «reine» Färbungen ergeben, und stellten jeweils ganze Konzentrationsreihen her, worüber wir vor einiger Zeit kurz berichteten[1].

Da es sich bei näherer Untersuchung zeigte, dass die erzielten Farbreihen auf Zusammenhänge von allgemeinerem Interesse hindeuten, haben wir unsere früheren Beobachtungen in mehrfacher Hinsicht ergänzt und erweitert.

Nachfolgend geben wir in einem ersten Teil eine Weiterentwicklung und Ergänzung der farbmetrischen Unterlagen, während in einem zweiten Teil die experimentellen Ergebnisse dargelegt und gedeutet werden.

I. *Farbmetrische Grundlagen*

a) *Bisherige Ergebnisse.* Die zweckmässigste Form der Wiedergabe des Farbeindruckes ist immer noch umstritten, trägt doch eine jede Kompromisscharakter. Auf *mischmetrischem* Gebiet hat sich die Darstellung in der trichromatischen C.I.E.-Farbtafel eingebürgert. Wir selbst haben davon Gebrauch gemacht. Da aber wichtige Beziehungen unberücksichtigt bleiben, wiesen wir kürzlich erneut auf das auf Ostwald zurückgehende Vollfarbsystem hin, wonach sich jede Farbe als anteilige Mischung einer Rein- oder Vollfarbe bestimmten Farbtons mit Weiss und Schwarz gemäss der allgemeinen Farbgleichung

$$w + s + v = 100 \qquad (1)$$

darstellen lässt[2]. Auch zeigten wir, wie diese «Ostwaldkoordinaten» in einem gesetzmässigen Zusammenhang mit den sogenannten «Helmholtzkoordinaten» Farbton, Sättigung und Vollfarbbezug (Bezugshelligkeit) stehen.

Nun ist es aber bekannt, dass das Vollfarbsystem nicht ohne negative Koordinaten auskommt, soll die gesamte Mannigfaltigkeit der Körperfarben erfasst werden. Da die Vollfarben bloss einen Spezialfall der Optimalfarben darstellen, wurde wiederholt der Vorschlag gemacht[3], diese für die Farbkennzeichnung zu verwenden. Richter[4] benützte sie in der Tat als Grundlage für das deutsche DIN-Farbensystem, worin die Farben nach Farbton, Sättigungsstufe und Dunkelstufe vorwiegend stufenmetrisch geordnet sind, und der Optimalfarbe selbst jeweils die Dunkelstufe *0* zugeschrieben wird.

Kürzlich hat Richter unter Hinweis auf unsere vorangehende Arbeit gezeigt, dass zwischen den Ostwald- und den DIN-Masszahlen relativ einfache formelmässige Zusammenhänge bestehen[5]. Dieses Beziehungssystem werden wir nachfolgend noch ausbauen und verallgemeinern, weil dies zum besseren Verständnis unserer praktischen Ergebnisse dient. Dabei beschränken wir uns wiederum auf die Darlegung der rein mischmetrischen Verhältnisse, da deren vollständige Abklärung der stufenmetrischen Betrachtung voranzugehen hat.

b) *Der Optimalfarbzug.* Nach Schrödinger[6] besitzen Farben, deren Spektren höchstens zwei Sprungstellen zwischen 0 und 1 aufweisen, Optimalcharakter. Unter den Optimalfarben gleichen Farbtons kommt der Vollfarbe der grösste Gehalt an «Reinfarbe» zu und dient deshalb als Einheitsmass für den Anteil an Rein- oder Vollfarbe. Wie Luther[7] zeigte, umschliesst der Zug der Optimalfarben das (mischmetrisch) farbtongleiche Dreieck von Schwarz S über die Vollfarbe V bis zu Weiss W, wobei das Ausmass der Ausbuchtung je nach Farbton wechselt. Bemerkenswert ist die Punktsymmetrie komplementärer Optimalfarbpaare in bezug auf mittleres Grau[8].

Als Koordinaten zur Wiedergabe der Optimalfarbzüge verwendete Luther Farbmoment und Helligkeit (Hellbezugswert nach Richter), und spätere Autoren sind ihm hierin gefolgt. Da aber Farbmoment und Helligkeit der Vollfarben je nach Farbton variieren, entstehen ganz verschieden gestaltete farbtongleiche Dreiecke. Wir ziehen die Darstellung in übereinstimmend gleichseitigen oder gleichschenkligen[9] Dreiecken vor, da dies erlaubt, uns besonders interessierende Zusammenhänge klarer hervortreten zu lassen.

Zur Ermittlung der Grenzwellenlängen λ_1 und λ_2 der spektralen Banden der Optimalfarben sowie der «zentrierten» trichromatischen Normfarbwerte X_0, Y_0 und Z_0[10] bedienten wir uns einer Tabelle der aufsummierten Normfarbwerte[11]. Bedeuten, wie üblich, A_0, B_0 und C_0 bzw. a_0, b_0 und c_0 die nach abnehmender Grösse geordneten Normfarbwerte bzw. Farbwertanteile der Optimalfarben, so durfte der die charakteristische oder dominierende Wellenlänge λ_d[12] einer Optimalfarbe bestimmende Farbtonquotient

$$q = \frac{B_0 - C_0}{A_0 - C_0} = \frac{b_0 - c_0}{a_0 - c_0} \qquad (2)$$

innerhalb einer Optimalfarbreihe nicht mehr als $\pm$ 0,0005 vom Mittel abweichen[13].

* Physikalische Anstalt der Universität und Forschungslaboratorium der CIBA Aktiengesellschaft, Basel.

[1] R. Rometsch und K. Miescher, Exper. *9*, 307 (1953).

[2] R. Rometsch und K. Miescher, Exper. *11*, 79 (1955).

[3] S. Rösch, Physikal. Z. *29*, 83 (1928); Fortschr. Min. Krist. Petr. *13*, 144, 171 (1929).

[4] M. Richter, Die Farbe *1*, 85 (1952); *2*, 137 (1953).

[5] M. Richter, Die Farbe *6*, 49 (1957).

[6] E. Schrödinger, Ann. Physik *63*, 397, 481 (1920).

[7] R. Luther, Z. techn. Physik *12*, 540 (1927).

[8] Siehe hiezu Abb. 3 bis 6, insbesondere auch die schöne Darlegung des Optimalfarbenproblems durch C. Dolland, Die Farbe *5*, 113 (1956).

[9] Besonders praktisch bei Benützung von Millimeterpapier.

[10] Die Verwendung «zentrierter» Normfarbwerte bzw. -anteile wird in dieser Arbeit vorausgesetzt und daher auf den früher von uns vorgeschlagenen Zentrierungsindex * verzichtet.

[11] Dagegen empfiehlt sich die graphische Verwendung der Summenkurve der Farbmomente nach Luthers Vorschlag weniger, da ihr teilweise flacher Verlauf zu erheblichen Ablesefehlern führen kann. (So erwiesen sich die DIN-Werte der Optimalfarben der DIN-Farbkarte 6164, Blatt 1, für unsere Zwecke in gewissen Gebieten als zu ungenau.)

[12] Darunter wird hier stets die Wellenlänge der im Farbton gleichen Spektralfarbe verstanden.

[13] Von Mac Adam, J. opt. Soc. Amer. *25*, 361 (1935), angegebene trichromatische Optimalfarbkoordinaten sind nicht für gleiches λ_d berechnet und auch nicht zentriert. Über eine interessante graphische Bestimmung berichtete kürzlich E. Hellmig, Die Farbe *5*, 137 (1956).

Die Darstellung des Optimalfarbzuges geschieht in gewohnter Weise mit Hilfe der Dreieckskoordinaten Weiss und Schwarz nach Ostwald, der «Helmholtzkoordinaten»-Sättigung t und Vollfarbbezug f nach Miescher oder rechtwinkliger Koordinaten mit

$$v = 100\,\frac{A_0 - C_0}{A_v - C_v} \qquad (3)$$

als Abszisse[14] und des sogenannten reduzierten Hellbezugswertes H_m als Ordinate, wobei für die Vollfarbe durchwegs $H_m = 50$ gilt.

Ist ganz allgemein v der Vollfarbanteil einer Farbe F, $H = 100\,Y$ ihr Hellbezug, H_V derjenige der zugehörigen Vollfarbe, sowie H_m der reduzierte Hellbezug von F, so folgt aus Abbildung 1:

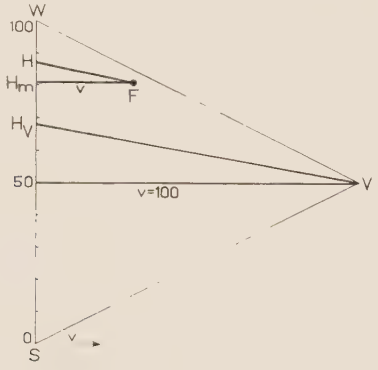


Abb. 1. Bestimmung des reduzierten Hellbezugs H_m.

$$\frac{H - H_m}{H_V - 50} = \frac{v}{100} \quad \text{oder} \quad H_m = H - v\,\frac{H_V - 50}{100} = H - k_m v, \qquad (4)$$

wobei k_m eine Reduktionskonstante des Hellbezugs darstellt. Trägt man H_V auf der Grauseite ab, so kann man die Berechnung von H_m vermeiden, sofern man berücksichtigt, dass sich hellbezugsgleiche Farbreihen auf Parallelen zu VH_V befinden.

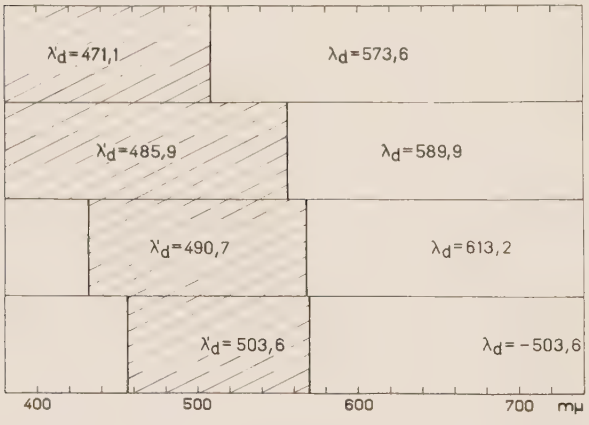


Abb. 2. Spektrale Vollfarbgrenzen der in Abb. 3 bis 6 dargestellten Vollfarbpaare.

In den Abbildungen 3 bis 6 sind die Optimalfarbzüge für 4 komplementäre Farbtonpaare in bezug auf gleichseitige Vollfarbdreiecke dargestellt[15], und Abbildung 2 gibt die Spektren der entsprechenden Vollfarbenpaare wieder.

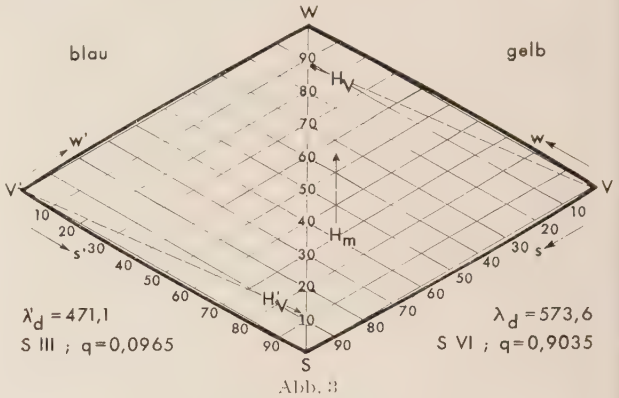


Abb. 3

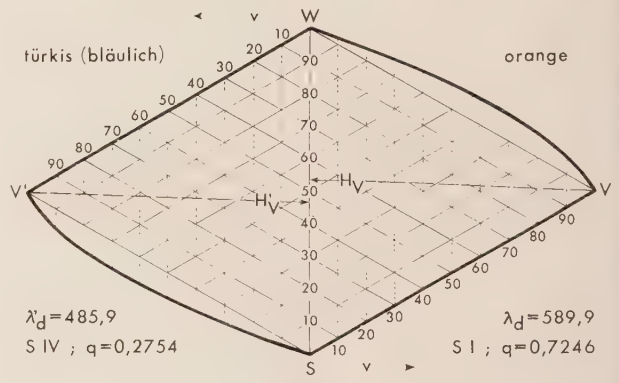


Abb. 4

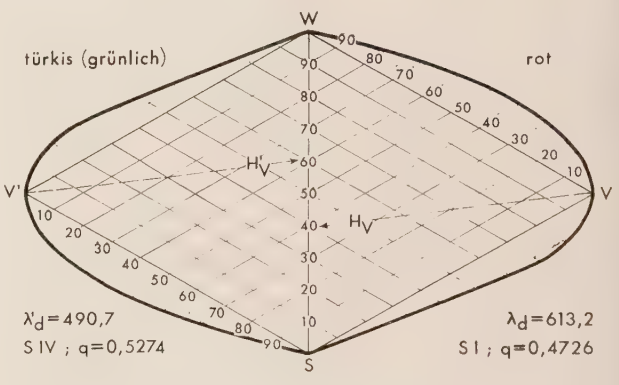


Abb. 5

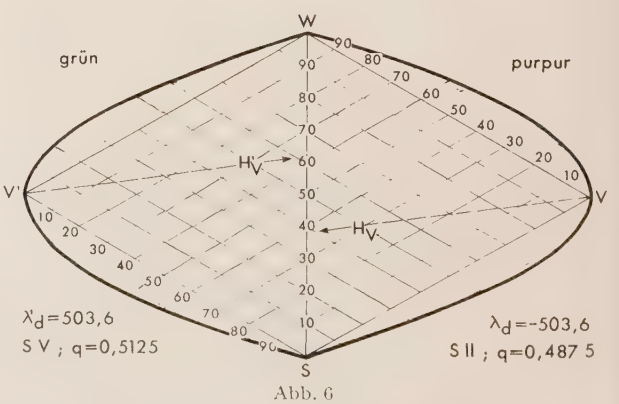


Abb. 6

Abb. 3 bis 6. Lage komplementärer Optimalfarbzüge in Bezug auf komplementäre Vollfarbdreiecke. S = Sektor in der Farbtafel, q = Farbtonquotient.

[14] A_v und C_v sind der grösste und der kleinste Normfarbwert der entsprechenden Vollfarbe.

[15] Man vergleiche diese Kurven mit analogen, nach Farbmoment und Hellbezug geordneten von Luther und von Dolland.

Ordnet man die komplementären Optimalfarbzüge um SW als Achse an, so entsteht ein neuer Farbkörper, der mit dem Ostwaldschen Farbdoppelkegel die horizontale, kreisrunde Grundfläche, mit dem Luther-Nybergschen Farbkörper die unterschiedlich überwölbten Mantelflächen bei erhaltener Punktsymmetrie teilt.

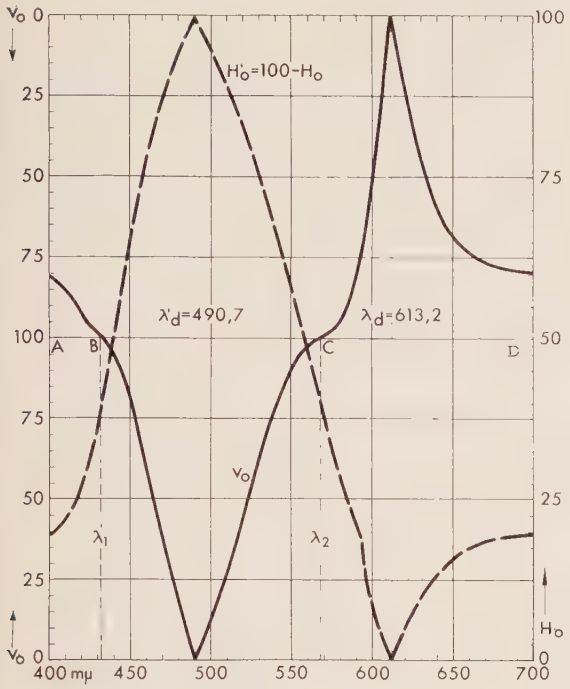


Abb. 7. Lage der Grenzwellenlängen der in Abb. 5 dargestellten komplementären Optimalfarbzüge in Abhängigkeit von Vollfarbanteil und Hellbezug.

Abbildung 7 zeigt für die beiden kompensativen Farbtöne $\lambda_d = 613{,}2$ mμ (rot) und $\lambda'_d = 490{,}7$ mμ (türkis) den Verlauf der Lage der Grenzwellenlängen λ_1 und λ_2 der betreffenden Optimalfarbreihen in Abhängigkeit von ihrem Vollfarbanteil v_0 bzw. v'_0 und von ihrem Hellbezug H_0 bzw. H'_0.

Die Vollfarbanteile komplementärer, sich zum Gesamtspektrum ergänzender Farbpaare sind sich gleich, ihre Hellbezüge ergänzen sich zu 100%. So beträgt der Hellbezug der roten Vollfarbe mit den spektralen Gebieten AB und CD 39,7% und der blaugrünen Gegenvollfarbe mit dem spektralen Gebiet BC 60,3%.

Von besonderem Interesse sind solche Farbreihen, die auf Verbindungslinien einer Optimalfarbe mit dem Schwarz- oder dem Weisspunkt liegen. Im ersten Fall handelt es sich um Farben gleicher «Weiß-Sättigung» t_w (Farbsättigung in bezug auf Weiss), im zweiten um Farben gleicher «Schwarz-Sättigung» t_s (Farbsättigung in bezug auf Schwarz). Für sie gelten die Gleichungen:

$$t_w = 100 \frac{v}{v_w}; \qquad t_s = 100 \frac{v}{v_s}. \tag{5}$$

Für Vollfarben ist $t_w = t_s = 100\%$. In Gebieten ausserhalb der SV-Seite des Vollfarbdreiecks ist t_w, ausserhalb der WV-Seite t_s grösser als 100%. Auch die geraden Teilstrecken der Optimalfarbzüge der Abbildungen 4 und 5 entsprechen Farbreihen gleicher Weiss- bzw. Schwarz-Sättigung.

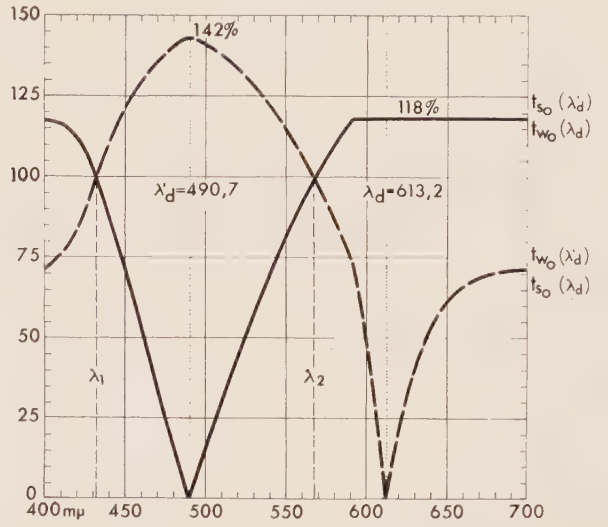


Abb. 8. Lage der Grenzwellenlängen der in Abb. 5 dargestellten komplementären Optimalfarbzüge in Abhängigkeit von Weiss- und Schwarz-Sättigung.

Abbildung 8 zeigt für dieselben Farbtöne wie in Abbildung 7 die Lage der Grenzwellenlängen komplementärer Optimalfarben in Abhängigkeit von t_{w_0} und t_{s_0}. Die Weiss-Sättigung der einen Optimalfarbe entspricht jeweils der Schwarz-Sättigung der komplementären Optimalfarbe. Im Gebiete des horizontalen Verlaufs von t_{w_0} oder t_{s_0} dient zweckmässig jeweils der andere Sättigungswert zur eindeutigen Kennzeichnung der betreffenden Optimalfarben.

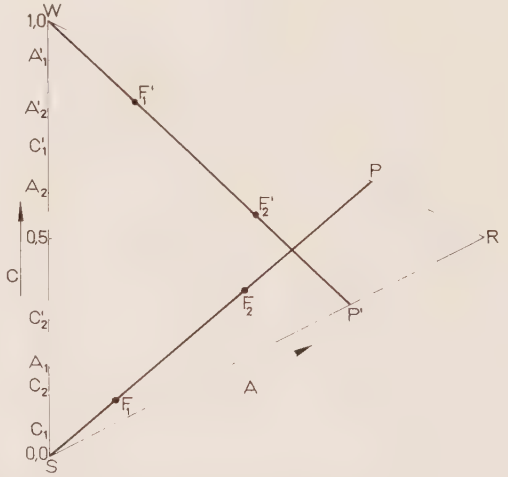


Abb. 9. Trichromatisches Reinfarbdreieck. Normfarbwertbeziehungen für Reihen gleicher Weiss- bzw. Schwarz-Sättigung.

Im trichromatischen farbtongleichen Dreieck Abbildung 9 mit den Eckpunkten S, W und trichromatische Reinfarbe (R) stellen F_1 und F_2 bzw. F'_1 und F'_2 auf SP bzw. WP' je 2 Farbpunkte auf Reihen gleicher trichromatischer Weiss-Sättigung[16] bzw. Schwarz-Sättigung

[16] Auch Farben gleicher Farbart oder gleichem spektralem Farbanteil.

dar. Für die Dreieckskoordinaten A bzw. A' und C bzw. C' dieser Farbpunkte gelten die Beziehungen[17]:

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{C_1}{C_2} = \text{konst. und } \frac{1-A_1}{1-A_2} = \frac{1-C_1}{1-C_2} = \text{konst.}$$

Ganz allgemein folgt für Farben gleicher Weiss- bzw. Schwarz-Sättigung:

$$\left.\begin{aligned} X : Y : Z &= x : y : z = \text{konst.} \\ 1-X : 1-Y : 1-Z &= (1-Sx) : (1-Sy) : (1-Sz) = \text{konst.} \end{aligned}\right\} \quad (6)$$

wobei X, Y und Z die Normfarbwerte, S ihre Summe und x, y und z die Farbwertanteile der Farbpunkte dieser Reihen darstellen.

In der trichromatischen Farbtafel besetzen Farbreihen gleicher Farbart (t_w = konst.) bei gleichem Farbton nur einen Punkt, während Farben von konstantem t_s auf der Verbindungsstrecke zwischen dem Ort der Optimalfarbe und dem Unbuntpunkt liegen.

c) *Optimalfarbkoordinaten.* Wie aus den Abbildungen 7 und 8 hervorgeht, entsteht eine Folge von Optimalfarben mischmetrisch gleichen Farbtons, wenn man das Gesamtspektrum, eventuell unter Überspringung der spektralen Lücke, bei Erhaltung der charakteristischen Wellenlänge λ_d immer mehr einengt. Der Vorgang entspricht einer zunehmenden Verdunkelung bei wachsender Weiss-Sättigung t_w der Farbe, der umgekehrte dagegen einer zunehmenden Aufhellung und Verweisslichung der anfangs spektralgesättigten Farbe unter Zunahme der Schwarz-Sättigung t_s. Wir bewegen uns auf dem Optimalfarbzug (Abbildung 10) von W über O_1, V, O_2 nach S oder umgekehrt.

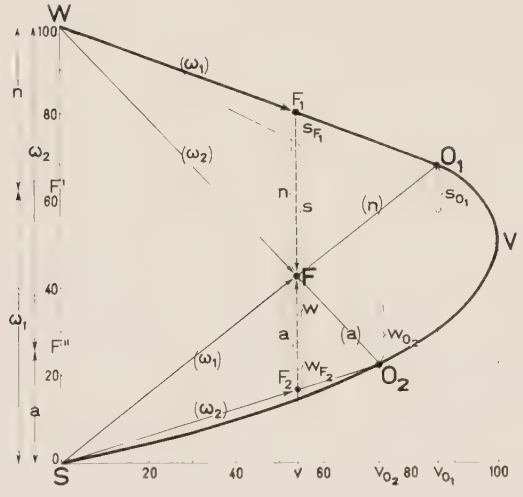


Abb. 10. Vollfarbdreieck. Beziehung zwischen Optimalfarb- und Vollfarbkoordinaten für die Türkisfarbe F (λ_d = 490,7 mμ).

Eine Verdunkelung oder Schwärzung wird aber auch durch gleichmässige Verringerung der spektralen Intensität einer einzelnen Optimalfarbe, zum Beispiel von O_1 unter Festhaltung der spektralen Sprungstellen, erreicht. Die entstehende Farbreihe folgt einem Strahl gleicher Weiss-Sättigung von O_1 über die Farbe F in Abbildung 10 nach S. Bezeichnen wir den prozentualen Anteil an Optimalfarbe O_1 mit ω_1 und den prozentualen Verdunkelungsgrad mit n (Nigredo), so gilt in bezug auf die Farbe F:

$$\omega_1 + n = 100, \quad (7)$$

wobei für O_1 selbst $\omega_1 = 100$ und $n = 0$ beträgt.

Umgekehrt wird eine wachsende Aufhellung und Verweisslichung auch erzielt, indem man zunehmende Anteile an Optimalfarbe durch weisses Licht ersetzt, wiederum unter Erhaltung der spektralen Sprungstellen. In diesem Fall bewegt man sich auf einem Strahl gleicher Schwarz-Sättigung, so zum Beispiel von O_2 über F nach W in Abbildung 10. Bezeichnen wir den Anteil an Optimalfarbe O_2 mit ω_2 und den Weissungsgrad mit a (Albedo), so folgt:

$$\omega_2 + a = 100\,. \quad (8)$$

In Abbildung 10 teilen die Punkte F, F_1 und F' die Strecken SO_1, WO_1 und SW im Verhältnis $\omega_1 : n$ und die Punkte F, F_2 und F'' die Strecken WO_2, SO_2 und WS im Verhältnis $\omega_2 : a$. Behandelt man die Optimalfarbanteile sowie n und a wie Vektoren, die von S und W ausgehen, so ergibt sich der Farbort F durch geometrische Addition der von S ausgehenden Vektoren (ω_2) und a wie auch der von W ausgehenden Vektoren (ω_1) und n. In F treffen sich die Resultanten SF und WF dieser Vektoradditionen, die wiederum ω_1 und ω_2 charakterisieren.

Unabhängig vom Bezugssystem muss die Kennzeichnung einer Farbe immer denselben Anteil an «Reinfarbmenge» ergeben. Rechnet man in Vollfarbeinheiten, so gilt für den Vollfarbanteil v der Farbe F in Abbildung 10:

$$v = \frac{v_{O_1}}{100}\,\omega_1 = \frac{v_{O_2}}{100}\,\omega_2\,, \quad (9a)$$

wobei v_{O_1} und v_{O_2} die Vollfarbanteile der Optimalfarben O_1 und O_2 bedeuten. Aus (9a) folgt unmittelbar:

$$\omega_1 : \omega_2 = v_{O_2} : v_{O_1}\,. \quad (9b)$$

Bedeuten w und s Weiss- und Schwarzanteil von F, sowie s_{O_1} und w_{O_2} entsprechende Anteile der Optimalfarben O_1 und O_2, so ist nach Abbildung 10:

$$\left.\begin{aligned} n &= s + s_{F_1} \\ a &= w + w_{F_2} \end{aligned}\right\}, \quad (10)$$

wobei s_{F_1} und w_{F_2} sowie s_{O_1} und w_{O_2} an sich negative Werte darstellen. Aus Abbildung 10 folgt auch:

$$\left.\begin{aligned} s_{F_1} : s_{O_1} &= v : v_{O_1} \\ w_{F_2} : w_{O_2} &= v : v_{O_2} \end{aligned}\right\}. \quad (11)$$

Nach s_{F_1} und w_{F_2} aufgelöst und in (10) eingesetzt ergibt:

$$\left.\begin{aligned} n = s + v\,\frac{s_{O_1}}{v_{O_1}} \qquad & \qquad s = n - v\,\frac{s_{O_1}}{v_{O_1}} \\ \text{oder:} & \\ a = w + v\,\frac{w_{O_2}}{v_{O_2}} \qquad & \qquad w = a - v\,\frac{w_{O_2}}{v_{O_2}} \end{aligned}\right\}, \quad (12)$$

[17] Siehe K. Miescher, Z. techn. Physik *11*, 66 (1930). Der grösste Normfarbwert A ist identisch mit dem trichromatischen «Reinfarbbezug». Der kleinste Normfarbwert C entspricht dem trichromatischen Weissanteil, $A - C$ dem trichromatischen Reinfarbanteil.

wobei die Quotienten Konstanten darstellen.

Durch die Gleichungen (9) und (12) ist der Zusammenhang zwischen den verallgemeinerten Optimal- und den Vollfarbkoordinaten gegeben[18].

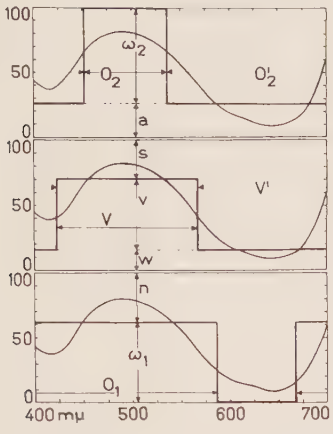


Abb. 11. Metamere Grenzspektren der Türkisfarbe F in Abb. 10.

Abbildung 11 zeigt, wie das Spektrum einer grünen Farbe $\lambda_d = 490{,}7$ mμ durch metamere Spektren ersetzt werden kann, die sich auf die Schwarzoptimale O_1, die Weissoptimale O_2 oder die Vollfarbe V beziehen[19]. Der Grenzcharakter der Optimalfarbkoordinaten und die Mittelstellung der Vollfarbkoordinaten treten dabei deutlich zutage[20]. Die Anteile von s und n sind umso kleiner und diejenigen von w und a umso grösser, je gesättigter die als Bezug dienende Reinfarbe (O_1, O_2 oder V) ist. Aus Abbildung 11 ist ferner ersichtlich, dass die Koordinaten a und n auch als Anteile der zu O_2 und zu V komplementären Farben O'_2 und V', gemäss der von uns früher entwickelten Gegenfarbenlehre, gedeutet werden können[21], was übrigens bei vektorieller Darstellung ohne weiteres ersichtlich ist.

Aus (6) folgt ferner:

$$\left.\begin{aligned} \omega_1 &= 100\ \frac{X}{X_{O_1}} = 100\ \frac{Y}{Y_{O_1}} = 100\ \frac{Z}{Z_{O_1}} \\ \omega_2 &= 100\ \frac{1-X}{1-X_{O_2}} = 100\ \frac{1-Y}{1-Y_{O_2}} = 100\ \frac{1-Z}{1-Z_{O_2}} \end{aligned}\right\}, \quad (13)$$

wobei X, Y und Z die Normfarbwerte der Farbe F, X_{O_1}, Y_{O_1}, Z_{O_1} sowie X_{O_2}, Y_{O_2} und Z_{O_2} diejenigen der Optimalfarben O_1 und O_2 bedeuten. Sind letztere bekannt, so erlauben die Gleichungen (13) die gegenseitige Transformation der Optimal- und der trichromatischen Koordinaten.

Die Optimalfarben wurden hier etwas ausführlicher behandelt, da sie nicht nur für den praktischen Teil unserer Arbeit von Bedeutung sind, sondern auch in der Reproduktionstechnik und in der Filtertheorie wachsendes Interesse finden.

Das DIN-System von RICHTER nimmt nur auf die Weiss-Optimalen Bezug, dabei entspricht der Weissoptimalanteil ω_1 der sogenannten Relativhelligkeit $h = A/A_0$ nach RICHTER[22], während die Nigredo n in Beziehung zur «Dunkelstufe» steht. Es wäre zweifellos von Interesse, auch die Bedeutung der Schwarzoptimalen und der Albedo, also von ω_2 und a, im Rahmen des DIN-Systems zu untersuchen.

d) *Optimalgleiche und optimalanaloge Farbreihen.* In praktischer Hinsicht sind Farbreihen von Interesse, die durch affine Transformation aus dem Optimalfarbzug hervorgehen. So sind in Abbildung 12 Kurvenscharen gleicher Nigredo und gleicher Albedo bzw. gleichen Schwarzoptimal- bzw. gleichen Weissoptimalfarbanteils für das komplementäre Farbpaar der Abbildung 5 dargestellt[23]. Dabei geht jeweils eine albedo- bzw. nigredogleiche Reihe des einen Farbtons in eine nigredo- bzw. albedogleiche Reihe des kompensativen Farbtons über.

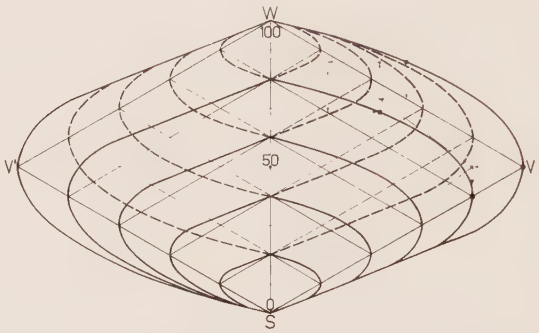


Abb. 12. Farbreihen gleicher Nigredo (——) und gleicher Albedo (- - - - -) in komplementären Vollfarbdreiecken. ····· Hilfskonstruktion für die affine Transformation.

Im Grenzfall, wenn der Optimalfarbzug mit den Dreiecksseiten zusammenfällt, gehen die Nigredo- und Albedogleichen in die zur WV- oder SV-Seite des Vollfarbdreiecks parallelen Schwarz- bzw. Weissgleichen OSTWALDS über.

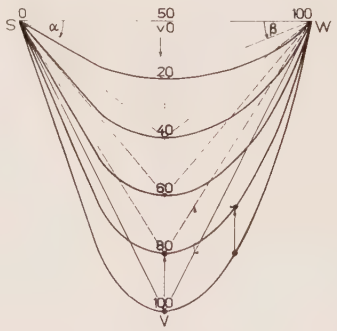


Abb. 13. An W und S aufgehängte, optimalanaloge Farbreihen (Rot. $\lambda_d = 613{,}2$ mμ).

[18] M. RICHTER, Die Farbe *6*, 56 (1957). Seine Ergebnisse gehen bezüglich der Weiss-Optimalen den unsrigen parallel.

[19] Die Vollfarbe dient hier nur als Vertreter der zwischen O_1 und O_2 befindlichen Optimalfarben. Sie alle könnten als Bezug zur Kennzeichnung einer Farbe dienen, die Vollfarbe erfordert aber den kleinsten Anteil an Reinfarbe.

[20] Die Mittelstellung der Vollfarben geht allerdings verloren, wenn F ausserhalb des Vollfarbdreiecks liegt.

[21] K. MIESCHER, Z. Sinnesphysiologie *57*, 72 (1925); Z. techn. Phys. *11*, 223 (1930).

[22] Die «Hellbezugswerte» A und A_0 des DIN-Systems sind identisch mit $H = 100\ Y$ und $H_0 = 100\ Y_0$. Die gleichzeitige Verwendung der Ausdrücke «Relativhelligkeit» und «Hellbezugswert», die praktisch dasselbe bedeuten, für verschiedene Grössen scheint nicht unbedenklich. Übrigens benützen wir schon lange die 3 ersten Buchstaben des Alphabets zur Ordnung der trichromatischen Koordinaten nach ihrer Grösse.

[23] Die Lage der affinen Kurven findet man entweder durch anteilige Verkürzung der Schwarz- bzw. Weissoptimalen oder nach der in Abbildung 12 angedeuteten Konstruktion.

Besonderes praktisches Interesse kommt der Auffassung des Optimalfarbzugs als Konzentrationsreihe eines idealen Farbstoffes zu. Jede spektrale Abweichung einer Farbe vom Optimalcharakter führt unabwendbar zu einer Verschiebung der Farbe nach dem Innern der Optimalfarbfläche. So werden zweckmässig die Verdünnungsreihen realer Farbstoffe auf entsprechende Optimalfarbreihen gleichen Farbtons als äusserste Grenze bezogen.

Verringert man die Vollfarbanteile längs des Optimalfarbzuges um wachsende Bruchteile, so entsteht eine ganze Schar zum Optimalfarbzug symmetrisch verlaufender Kurven «optimalanaloger» Farbreihen (Abbildung 13), die sich stufenweise der Grauseite nähern und schliesslich mit ihr zusammenfallen. Man kann sich auch den Optimalfarbzug nach Art einer Kette vorstellen, die an S und W aufgehängt ist und zunehmend verkürzt wird. In diesem Sinne sprechen wir von *Hängereihen.*

Lässt man die Vollfarbanteile auf den beiden von V ausgehenden Kurvenästen des Optimalfarbzuges verschieden rasch abnehmen, so entsteht eine weitere Schar nunmehr zum Optimalfarbzug asymmetrischer Kurven optimalanaloger Farbreihen, die mehr gegen die eine oder die andere der von V ausgehenden Seiten des Dreiecks verschoben erscheinen (Abbildung 14).

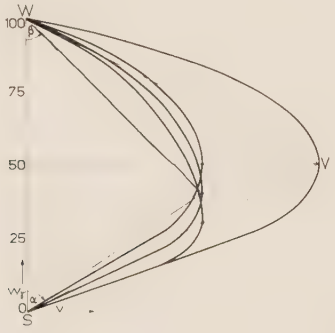


Abb. 14. Asymmetrische optimalanaloge Farbreihen.

In die Strahlen gleicher Weiss-Sättigung und gleicher Schwarz-Sättigung, die vom Schwarz- und Weisspunkt zum Kurvenscheitel führen, gehen die optimalanalogen Kurven im idealisierten Grenzfall über (siehe Abbildungen 13 und 14). Die Neigungswinkel α und β der beiden Strahlen zur Grauseite zeigen an, wie rasch v längs der beiden Kurvenäste verhältnismässig zu- oder abnimmt.

Zweckmässig kennzeichnet man die optimalanalogen Farbreihen durch ihr v_{max}, den Vollfarbanteil der Scheitelfarbe, sowie durch die von V aus durch den Kurvenscheitel nach der Grauseite führende Graugleiche. Ihr Schnittpunkt mit der SW-Seite teilt diese im Verhältnis $\gamma = s : w$, wobei s und w Schwarz- und Weissanteil der Scheitelfarbe bedeuten. Der Weissanteil w_γ dieses Graus beträgt:

$$w_\gamma = 100 \frac{w}{w + s}. \qquad (14)$$

v_{max} und w_γ bilden somit Charakteristika der Hängekurven.

e) *Verallgemeinerung.* Natürlich kann man sich die Hängekurven optimalanaloger Farbreihen auch an anderen Punkten der Graureihe als an Weiss und Schwarz befestigt denken.

In diesem Sinne erweisen sich die Reihen gleicher Nigredo oder Albedo als Sonderfall, indem der eine Haltepunkt an Schwarz bzw. Weiss fest bleibt, der andere aber sich längs der Graureihe unter wachsender Verkürzung der Kurve verschiebt.

Verändert man beide Aufhängepunkte, so entstehen je nach dem Grade ihrer Verschiebung gegenüber Schwarz und Weiss symmetrische oder asymmetrische Hängekurven, die man auch als Resultat des Zusammenspiels von Nigredo- und Albedogleichen verstehen kann.

Endlich können der eine oder beide Ausgangspunkte der Hängereihen mehr oder weniger nach dem Dreiecksinnern verschoben sein, und im allgemeinsten Fall fällt selbst die Farbtongleichheit innerhalb der Farbreihe weg; hier handelt es sich nicht mehr um Farbfolgen in der Dreiecksebene, sondern im dreidimensionalen Farbraum. Solchen Farbreihen werden wir im zweiten Teil dieser Arbeit begegnen.

Wenn auch die von uns behandelten Farbreihen alle aus dem Optimalfarbzug durch affine Transformation hervorgehen, so ist es doch keineswegs erforderlich, dass die Reihenglieder bezüglich ihres spektralen Charakters etwa nur senkrechte Sprungstellen aufweisen. Wie schon Abbildung 11 lehrt, besteht in dieser Hinsicht grösste Freiheit, wenn nur der Farbeindruck derselbe bleibt. Dabei steigt der Bereich der metameren Möglichkeiten um so mehr an, je weiter die Farbe vom Optimalfarbzug entfernt ist.

f) *Fluoreszenzfarben.* Bisher ist bei gegebener Beleuchtung der Optimalfarbzug als äusserste Grenze realer Farben angesprochen worden; im Falle von Fluoreszenz kann sie aber in der Tat überschritten werden. Solche Farben scheinen zu leuchten. Das Ausmass der bestehenden Möglichkeiten abzutasten, böte bei dem grossen Interesse, das heutzutage fluoreszierende Farben und auch die sogenannten optischen Bleichmittel finden, besonderen Reiz. Hierauf werden wir in einer späteren Arbeit zurückkommen[24].

g) *Klarheitsgrad.* Im Hinblick auf die optimalanalogen Farbreihen sei darauf hingewiesen, dass schon Ostwald die von den Reinstfarben nach Weiss und Schwarz führenden Übergänge im Anschluss an interessante Beobachtungen von Rosenstiehl[25] als hellklare und dunkelklare Farben bezeichnete[26]. Möglicherweise dürfen optimalanaloge Farbreihen als Farben gleichen Klarheitsgrades aufgefasst werden[27]. Naturgemäss erscheint uns eine Farbreihe umso farbklarer, je näher sie dem Optimalfarbzug und um so grauer, je näher sie der Graureihe verläuft. Dem Optimalfarbzug käme demnach die grösste, der Graureihe die kleinste Farbklarheit zu. Es ist aber auch der verschiedene Symmetriegrad der Konzentrationsreihen zu berücksichtigen. Je nachdem das lichtere oder das farbtiefere Gebiet bevorzugt ist, nähern sie sich mehr dem hellklaren oder dem dunkelklaren Ast des Optimalfarbzuges. Schliesslich schränkt auch die Ver-

[24] Siehe hiezu W. Schultze, Die Farbe *2*, 9 (1953) und H. E. Kundt, ebenda S. 23.

[25] M. A. Rosenstiehl, *Traité de la Couleur* (Paris 1913), p. 31.

[26] W. Ostwald, *Beiträge zur Farbenlehre*, Abh. math.-phys. Kl. Kgl.-sächs. Ges. Wiss. *34*, 508 (1917), *Mathetische Farbenlehre*, 3. Aufl. (Verlag Unesma, Leipzig 1930), p. 46.

[27] D. B. Judd, *Color in Business, Science and Industry* (New York 1952), p. 290, weist auf die in der Färberei üblichen, recht konfusen und sich widersprechenden Bezeichnungen hin und spricht im Hinblick auf Verdünnungsreihen realer Farbstoffe von Farbreihen konstanter färberischer «brightness» (Lebhaftigkeit) oder konstanter «cleanness» (Reinheit); Begriffe, die er aber mit Recht selbst bemängelt, wird doch zum Beispiel unter «brightness» meist auch die Helligkeit einer Farbe verstanden (siehe Judd, ebenda p. 280). – W. Schultze, *Farbenlehre und Farbenmessung* (Springer Verlag, Berlin 1957), p. 45.

schiedenheit der Aufhängepunkte im praktischen Fall die sinngemässe Anwendung des Klarheitsbegriffes ein.

II. *Konzentrationsreihen von Farbstoffen*

Das in unserer eingangs erwähnten Arbeit beschriebene Färbeverfahren für einseitig gelatiniertes, weisses Papier hat sich für Zwecke der Farbforschung als besonders einfach und zweckmässig erwiesen. Wir hatten damals von den 12 ausgewählten Farbstoffen geometrisch gestufte Verdünnungsreihen hergestellt und die Remissionskurvenscharen zweier Vertreter, von Ponceau PSNR (Papierrot) und von Kitonechtgrün *V* reproduziert.

Solche Kurven zeigen einen relativ einfachen Verlauf, indem meistens nur 1 oder 2 ausgesprochene Absorptionsgebiete auftreten. Das erstere gilt für gelbe bis rote Farbstoffe, das letztere für die violetten, blauen und grünen Farbstoffe.

Zur Veranschaulichung des Farbverlaufs der beiden Farbstoffe, in Abhängigkeit von der zur Färbung angewandten Konzentration, benutzten wir damals ein bilogarithmisch geteiltes Koordinatensystem mit der Konzentration als Abszisse und dem Remissionsminimum bzw. -maximum als Ordinate. Ausserdem kennzeichneten wir die Verdünnungsreihen aller 12 Farbstoffe durch ihre Wiedergabe in der trichromatischen Farbtafel für Beleuchtung *E*.

Inzwischen haben wir die Konzentrationsreihen noch ausgedehnt, um den Farbverlauf möglichst vollständig verfolgen zu können. Die Remissionskurven wurden frisch mit dem selbstregistrierenden Spektrophotometer von HARDY der G.E.C. aufgenommen und gleichzeitig die trichromatischen Koordinaten unter Mitverwendung des damit gekoppelten Integrators für Normlichtart *C* bestimmt und zentriert. Das Kitonechtgrün V ersetzten wir durch Mischungen von türkisfarbigem Benzylgrün B mit Chinolingelb, da damit reinere grüne Färbungen als mit dem einheitlichen Farbstoff erzeugt werden können. Wir bestimmten auch Verdünnungsreihen für zwei Gemische dieser beiden Farbstoffe, wobei die Konzentrationsverhältnisse für Grün 1 : 2,18 und für Gelbgrün (Papagei) 1 : 15,39 betrugen.

Um uns von den Zufälligkeiten des zur Färbung verwendeten Substrates unabhängig zu machen, haben wir auch ganz analog die Transmissionsfarben der wässerigen Lösung der Farbstoffe unter Verwendung von Küvetten von 1 cm Schichtdicke bestimmt. Wir gingen von möglichst konzentrierten Farblösungen aus und liessen die Konzentration der folgenden Stufen nach einer geometrischen Reihe abnehmen.

Schliesslich untersuchten wir auch die Konzentrationsreihen zweier typischer schwarzer Farbstoffe der Azoreihe, von Säureschwarz[28] D und G.

In Tabelle I sind die verwendeten Farbstoffe und Farbstoffgemische, sowie jeweils die für die Lösungsreihen wie für die Färbungen verwendeten höchsten Farbstoffkonzentrationen angeführt. Da in der Wärme gefärbt wurde, konnte hier die Farbstoffkonzentration im Bedarfsfall erheblich gesteigert werden. Im ganzen wurden für diese Untersuchung die Farbkoordinaten von über 700 Farbproben ermittelt.

Zur eingehenderen Analyse verfolgten wir den Farbverlauf beiderlei Verdünnungsreihen, sowohl in der trichromatischen Farbtafel (C.I.E.-Tafel) wie im Vollfarbdreieck.

[28] Auch Kitonschwarz genannt.

Tabelle I

Anfangskonzentrationen der Verdünnungsreihen in %

Farbstoffe	Lösung	Färbung
I. Chinolingelb	1,60	7,68
II. Tartrazin	1,60	1,92
III. Orange II	1,60	7,68
IV. Ponceau PSNR	1,28	0,48
V. Fullacidrot 3B	0,40	0,96
VI. Alizarinechtrubin 4B	0,40	0,48
VII. Brillantalizarinechtviolett 6R	0,20	0,48
VIII. Säureviolett 5B	0,20	0,12
IX. Brillantsäureblau G	0,05	0,12
X. Kitonblau AR	0,40	0,96
XI. Benzylgrün B	0,16	0,24
XII. Grün (XI : I = 1 : 2,18)	XI 0,119	0,06
	I 0,260	0,13
XIII. Papagei (XI : I = 1 : 15,39)	XI 0,110	0,085
	I 1,654	1,307
XIV. Säureschwarz D	0,05	0,12
XV. Säureschwarz G	0,013	0,038

A. *Verlauf in der C.I.E.-Farbtafel.* Die Abbildungen 15 bis 17 zeigen den Verlauf der ausgemessenen Farbreihen, sowohl in Durchsicht (Lösung) wie in Aufsicht (gelatiniertes Papier), in der zentrierten, trichromatischen Farbtafel für Normlichtart *C*. Die Änderung der Weiss-Sättigung (Abstand vom Weisspunkt) und die oft starke Verschiebung des Farbtons in Abhängigkeit von der Farbstoffkonzentration kommen eindrücklich zur Geltung.

Um die Grösse der Farbtonverschiebung besser zu verdeutlichen, haben wir in den Abbildungen 15 bis 17 die 24 Farbstufen unseres symmetrischen Farbkreises eingetragen. Nr. 2, 8, 14 und 20 bedeuten die 4 Urfarben Gelb, Rot, Blau und Grün, Nr. 5, 11, 17 und 23 die 4 Mittelfarben Orange, Violett, Türkis und Papagei (Gelbgrün)[29]. Streng gilt allerdings der Vergleich nur für die gesättigteren, durch Pfeile gekennzeichneten Stufen der Ausfärbung, die der Farbkreisteilung zugrunde lagen; ist doch zu berücksichtigen, dass mischmetrisch abgeleitete und stufenmetrisch beobachtete Farbtongleichheit je nach Farbton Unterschiede aufweisen kann.

Alle untersuchten Verdünnungsreihen gelöster Farbstoffe, und es gilt dies auch für die «schwarzen» Farbstoffe, beginnen auf oder nahe dem Spektralfarbzug oder auf der Purpurlinie, der Verbindungslinie seiner äussersten Enden. An der spektralen Grenze wird aber zugleich absolutes Schwarz erreicht. Anderseits enden alle Kurven auf dem Unbuntpunkt im Zentrum der Tafel, dem hier Weiss, die Farbe der Normlichtart *C*, entspricht.

Im Gegensatz zu den *Lösungskurven* (dick gestrichelt) zeigen die *Färbekurven* (ausgezogen) ausgesprochene Sättigungsmaxima. Der hellere und ungesättigtere Ast der Kurven endet jeweils auf dem «Weisspunkt», dem Farbort des gelblichen Papiers; der Tafelmitte nähert sich aber auch der dunklere und gesättigtere Ast mehr oder weniger, soweit es gelingt, genügend konzentrierte Lösungen der Farbstoffe herzustellen.

B. *Verlauf im Vollfarbdreieck.* In der trichromatischen Farbtafel kommt die Änderung der dritten Koordinate, der Hellbezugs $H = 100\ Y$, nicht zum Ausdruck. In der

[29] Siehe zum Beispiel K. MIESCHER, Helv. physiol. Acta *6*, C 12 (1948); Chimia *3*, 243 (1949); eine eingehendere Publikation wird demnächst folgen.

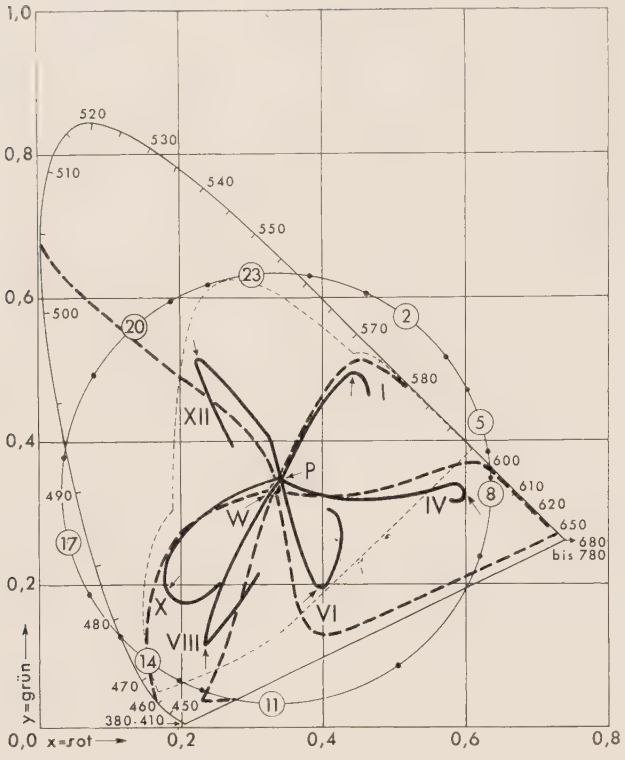


Abb. 15

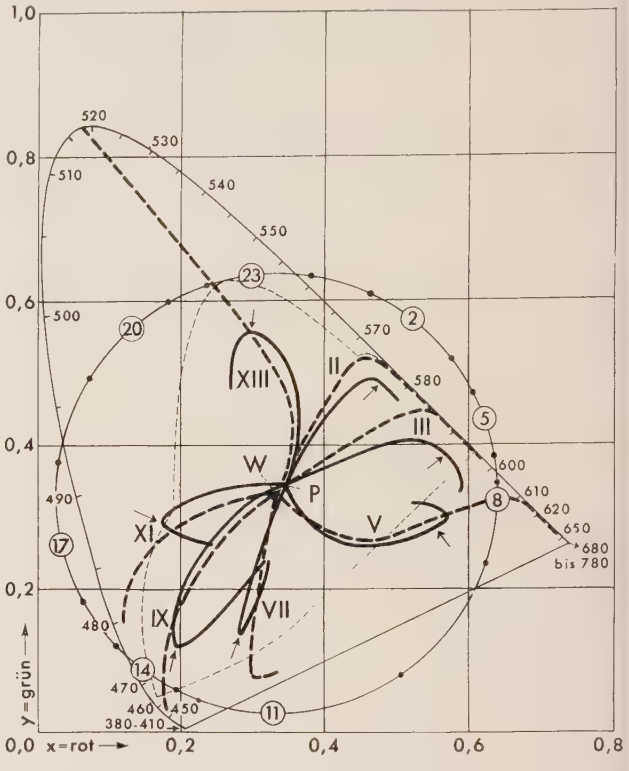


Abb. 16

Abb. 15 und 16. Darstellung der Farbstoffkonzentrationsreihen in der zentrierten Farbtafel für Normlichtart *C*.
——— Papierfärbungen ------ Lösungen ------ Vollfarbzug —○— 24teiliger Farbkreis (2 Gelb, 8 Rot, 14 Blau, 20 Grün).

Tat entsprechen aber Farbverdünnungsreihen, wie wir bereits bemerkt haben, Farblinien im dreidimensionalen Farbraum. Von den verschiedenen Möglichkeiten erweist sich die Darstellung des Farbverlaufes im ausgeglichenen Vollfarbdreieck als besonders zweckmässig. Indem hier vom Unterschied des Farbtons abstrahiert wird, können alle Farbverdünnungsreihen an Hand des gleichen Vollfarbdreiecks dargestellt und miteinander verglichen werden.

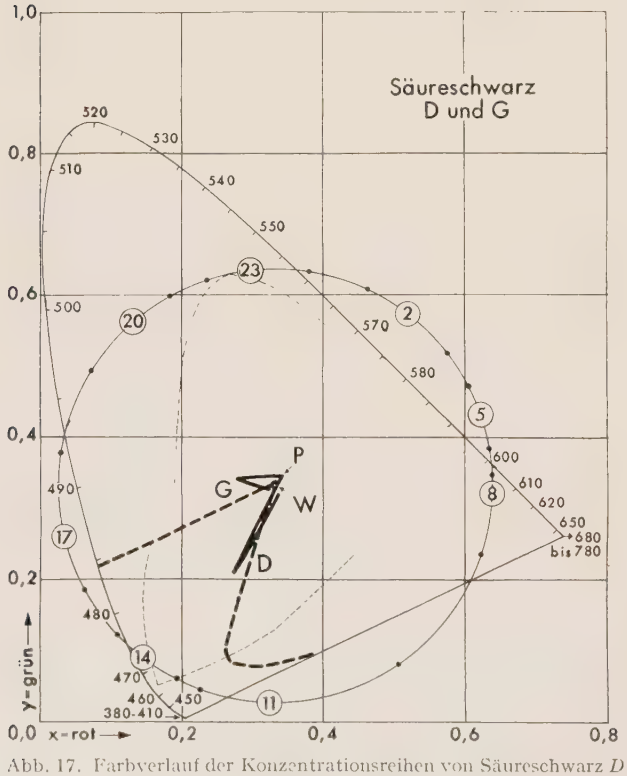


Abb. 17. Farbverlauf der Konzentrationsreihen von Säureschwarz *D* und *G* in der Farbtafel.

Die Abbildungen 18 bis 21 geben die von uns ermittelten Farbkurven der Farblösungen wie der Papierfärbungen von 7 Farbstoffen und einem Farbstoffgemisch wieder[30]. Ferner sind in Tabelle II einige charakteristische Werte aller von uns ermittelten Farbkurven zusammengestellt.

Abbildung 22 zeigt überdies den Verlauf des Vollfarbanteils v sowie des Hellbezugs H der Re- und Transmissionsfarben zweier Farbstoffe, Chinolingelb und Alizarinechtrubin 4B in Abhängigkeit der angewandten Konzentration (in logarithmischem Maßstab). Auffällig ist die Glockenform der Vollfarbwerte. Solchen Kurven kommt auch praktische Bedeutung zu.

Der Verlauf der Konzentrationsreihen im Vollfarbdreieck sei nun eingehender untersucht.

1. *Farblösungen.* a) *Alle Verdünnungsreihen zeigen einen mehr oder weniger ähnlichen Gang wie unsere theoretisch abgeleiteten optimalanalogen SW-Hängekurven*; der hellere obere Ast verläuft bis zum Weisspunkt (völlige Durchlässigkeit), der dunklere untere Ast endet im Schwarz (völlige Absorption) oder weist bei mangelnder Löslichkeit der Farbstoffe wenigstens darauf hin.

b) Ein genauer Vergleich der Verdünnungskurven mit den optimalanalogen Farbkurven ist insofern erschwert, als ja der Farbton bei der Verdünnung keineswegs gehalten wird. Infolgedessen wäre zu jedem Punkt der

[30] Die gegenüberstehenden Farben sind nicht kompensativ.

Farbkurve die zugehörige Optimalfarbe gesondert zu bestimmen. Hierauf werden wir in einer späteren Arbeit zurückkommen.

dass v_{max} von Kitonblau Nr. X höher liegt als bei den benachbarten violetten und Türkisfarbstoffen Nr. IX und XI.

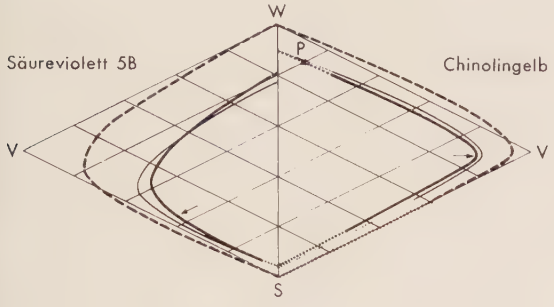


Abb. 18

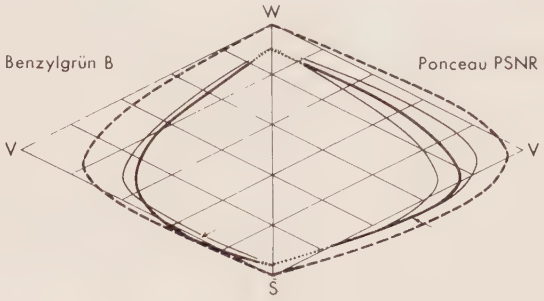


Abb. 20

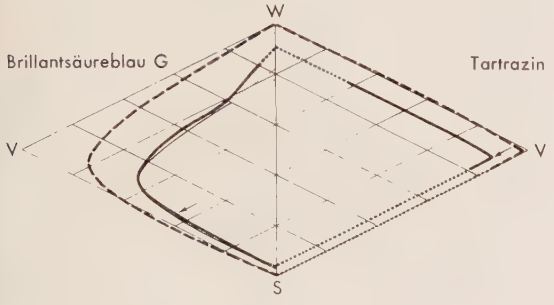


Abb. 19

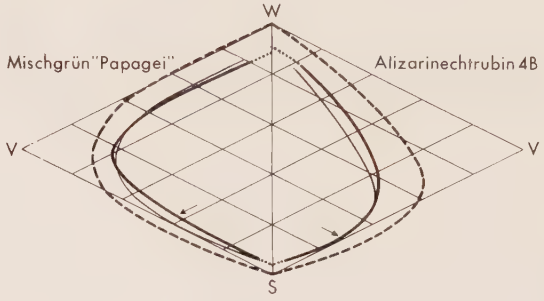


Abb. 21

Abb. 18 bis 21. Farbverlauf der Farbstoffkonzentrationsreihen im Vollfarbdreieck.
——— Färbungen auf Papier, ------ Lösungen, ——— abgeleitete Färbungen.

c) Nur die Verdünnungskurven *warmer* Farben (gelb bis rot) reichen nahe an den Optimalfarbzug heran, wobei Tartrazin das Optimum mit $v_{max} = 97{,}8\%$ erreicht.

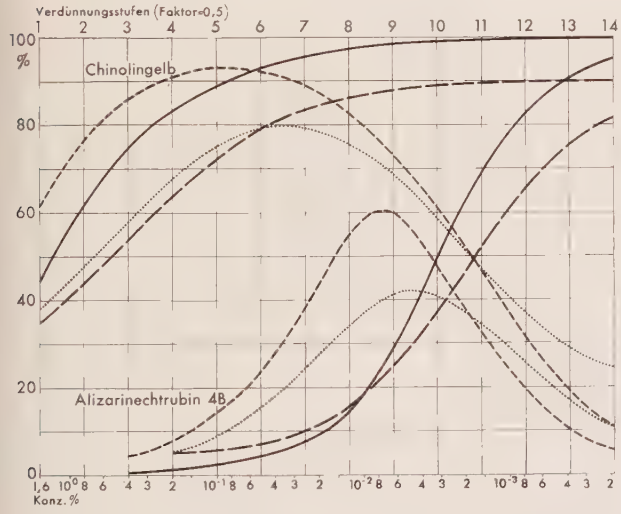


Abb. 22. Verlauf von Vollfarbanteil und Hellbezug in Abhängigkeit von der Farbstoffkonzentration.

------ Lösungen, · · · Färbungen } Vollfarbe
——— Lösungen, – – – Färbungen } Hellbezug

d) Die Kurven *kalter* Farben (grün, blau und violett) sind teilweise erheblich gegen die Grauseite verschoben; v_{max} der Scheitelfarbe sinkt zum Beispiel für das violette Alizarinechtrubin 4B bis auf 59,8% herab. Auffällig ist,

e) Der Wert von w_γ schwankt zwischen – 16,5% (Fullacidrot) und 56,5% (Chinolingelb)[31] und beträgt im Durchschnitt 27,1%.

f) Jedem reinen Farbstoff eignet offenbar eine besondere Verdünnungsreihe von mehr oder weniger optimalanaloger Art, die zweckmässig durch Angabe von v_{max} des Kurvenscheitels und von w_γ zu charakterisieren ist. v_{max} stellt ein direktes mischmetrisches Mass für die Annäherung der Farbreihe an den Optimalfarbzug dar.

2. *Papierfärbungen.* a) Die Farbkurven der Papierfärbungen verlaufen zwar ähnlich wie diejenige der Farblösungen und gleichen folglich ebenfalls den optimalanalogen Farbreihen, doch sind sie noch mehr nach dem Dreiecksinnern verlagert und v_{max} ist im Verhältnis kleiner. Der hellere Ast des Kurvenzugs führt zum (gelblichen) Weisspunkt der Unterlage, während der dunklere Ast auf ein aufgehelltes Schwarz (w etwa 4%) hinweist.

b) Auch bei den Papierfärbungen ist der Vollfarbanteil im Gebiet der *warmen* Farben am höchsten, erreicht aber bei Tartrazin nur $v_{max} = 85\%$.

c) Das v_{max} der Kurven *kalter* Farben sinkt stärker ab und beträgt zum Beispiel beim Alizarinechtrubin 4B bloss noch 42%.

d) Von Interesse ist das Verhältnis k_v der v_{max}-Werte von Färbung und Lösung:

$$k_v = \frac{v^{Fä}_{max}}{v^{Lö}_{max}} \qquad (15)$$

[31] Wenn wir uns auch bemühten, durch Einschaltung weiterer Konzentrationsstufen die Lage von v_{max} möglichst genau zu erfassen, ist doch mit einer gewissen Fehlerbreite von w_γ zu rechnen.

k_v beträgt 0,8 bis 0,9 bei warmen Farbstoffen gegenüber 0,6 bis 0,75 bei kalten.

e) w_γ der Färbekurven der Farbstoffe I bis XIII schwankt zwischen 7,3 und 45,6%. Die durchschnittliche Differenz der w_γ-Werte zwischen Farblösung und Färbung beträgt zwar im Mittel bloss 1,2%; es bestehen aber im einzelnen nicht unerhebliche Unterschiede (siehe Tabelle II).

Wegen des empfindungsgemäss grösseren Gewichtes hoher Sättigung gegenüber grossem Vollfarbanteil werden um so farbkräftigere Farben erzeugt, je niedriger w_γ ist. Umgekehrt erlaubt ein hohes w_γ sehr lichte Töne zu erreichen.

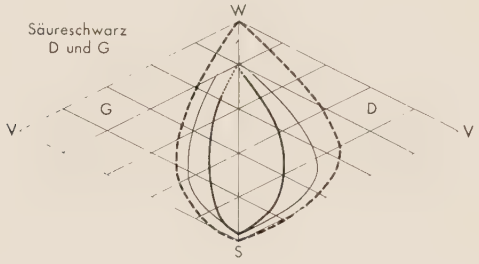


Abb. 23. Farbverlauf von Säureschwarz *D* und *G* im Vollfarbdreieck.

Wie aus Abbildung 23 und Tabelle II für das violettstichige Säureschwarz D und das grünstichige Säureschwarz G ersichtlich ist, können Sättigung und v_{max} sogenannter schwarzer Farbstoffe auf recht erhebliche Werte ansteigen. So beträgt v_{max} für Säureschwarz D in Lösung 45,7% und als Färbung 20,7%. *Schwarze Farbstoffe, deren Verdünnungskurve der Grauseite folgt, stehen immer noch aus.*

3. *Gründe der Abweichung vom Ideal. Farblösungen.* Wie schon darauf hingewiesen wurde, wird im Falle der Farblösungen nur im goldgelben Gebiet (Tartrazin) der Optimalfarbzug nahezu erreicht, während die Abweichungen im kalten Gebiet sehr erheblich sein können. Hiefür bestehen mehrere Gründe.

Die Spektren von Lösungen realer Farbstoffe zeigen keine plötzlichen Sprünge wie die Optimalfarben, sondern bloss mehr oder weniger rasche Übergänge, die steilsten wohl bei gelben bis orangeroten Farben. Hier nähern sich die Spektren am ehesten den Kantenspektren der betreffenden Vollfarben.

Die Spektren kalter Farben zeigen in konzentrierterer Lösung im Vergleich zu Vollfarben besonders enge Transmissionsbanden im Gebiet der Eigenfarbe, bei oft gesteigerter Absorption selbst im Bereiche der maximalen Transmission. Beides erhöht den Schwarzanteil.

Ausbreitung der Transmission auf das Gebiet der Gegenfarbe bei fortschreitender Verdünnung verschiebt die Farbe gegen Weiss zu.

Ausfärbungen. Der Verlauf der Färbekurven wird durch das zu färbende Substrat in tiefgreifender (und angenähert voraussehbarer) Weise beeinflusst. Wesentlich sind besonders die Lage des «Weisspunktes» sowie der Betrag der Oberflächenremission des Substrates. Beide bedingen die Ausgangslage der Färbekurven.

Das helle Ende. Da das Substrat praktisch nie rein weiss ist, sondern meist einen erheblichen Schwarzanteil aufweist, so werden die Verdünnungskurven (ähnlich wie bei Optimalfarbreihen gleicher Nigredo) im entsprechenden Verhältnis gegen Schwarz verschoben.

Ist überdies, wie üblich, das Substrat noch gelblich gefärbt, was auch für unser Papier zutrifft, so wird weiterhin der Schwarzanteil, insbesondere am Kurvenscheitel, davon bestimmt, wo sich das Gebiet der Hauptremission des Farbstoffes befindet. Liegt es – wie bei gelben bis orangen Farbstoffen – im gleichen Bereich wie beim (gelblichen) Substrat, so ist der Schwarzanteil relativ gering. Fällt die Hauptremission des Farbstoffes aber in das Hauptabsorptionsgebiet des Substrates (im blauen bis grünen Gebiet des Spektrums), dann erhöht sich der Schwarzanteil entsprechend. Die Remission unseres Papiers fällt von 92% am roten Spektralende bis gegen 70% am violetten Ende[32] ab. Entsprechend ist die Färbe-

[32] Das Remissionsspektrum unseres gelatinierten Färbepapiers ist aus Abbildung 24 ersichtlich.

Tabelle II

Farbstoff	v_{max} in %		kv[1]	λ_d[2] mμ	w_γ in %		Färbekurven		
							R_{min}[3]	Aufhängepkte.	
	Lösung	Färbung			Lösung	Färbung		w_{min}[4]	w_{max}[4]
I. Chinolingelb	93,1	79,2	0,85	572,0	56,5	40,4	4,2	4,5	90,0
II. Tartrazin	97,8	85,0	0,87	576,3	36,3	34,0	4,3	4,6	91,0
III. Orange II	96,0	81,8	0,85	590,7	25,0	30,2	4,0	4,5	90,5
IV. Ponceau PSNR	93,7	75,2	0,80	614,5	19,0	7,3	3,8	4,3	90,0
V. Fullacidrot 3B	89,7	62,8	0,70	–498,5	–16,5	9,4	3,8	4,7	91,5
VI. Alizarinechtrubin 4B	59,8	42,0	0,70	–528,5	16,2	24,1	4,0	4,2	91,5
VII. Brillantalizarinechtviolett 6R	70,0	42,0	0,60	–564,5	24,3	26,0	4,0	4,2	79,0
VIII. Säureviolett 5B	76,2	50,9	0,67	456,7	22,3	24,4	3,5	4,2	81,0
IX. Brillantsäureblau G	74,0	54,2	0,73	476,0	31,9	24,7	2,8	3,1	82,0[5] / 90,0
X. Kitonblau AR	82,6	54,9	0,67	484,7	35,6	29,5	2,6	3,0	90,0
XI. Benzylgrün B	75,1	54,4	0,72	489,6	27,3	25,0	2,5	4,0	90,5
XII. Grün (XI : I = 1 : 2,18)	70,8	52,8	0,75	524,0	21,6	33,5	4,3	4,0	91,0
XIII. Papagei (XI : I = 1 : 15,39)	71,3	63,8	0,90	559,0	42,5	45,6	4,1	4,0	89,0
XIV. Säureschwarz D	45,7	20,7	0,45	444,0	31,5	31,5	3,6	3,5	78,0
XV. Säureschwarz G	28,4	13,5	0,48	495,0	33,2	38,2	3,3	3,5	80,0
Durchschnittswerte:					27,1	28,3	3,7	4,0	

[1] Quotient der v_{max}-Werte von Färbung und Lösung.
[2] λ_d der v_{max} entsprechenden Färbung.
[3] In %. Durch Färbung erreichbares tiefstes Remissionsminimum.
[4] In %. Durch Extrapolation auf die Grauseite hin bestimmt. In Wirklichkeit sind Anfang und Ende durch die Papierfarbe gegeben.
[5] Siehe Abbildung 19.

kurve gelber bis gelbroter Farbstoffe gegenüber der Lösungskurve um etwa 10% gegen Schwarz zu verschoben, was sich besonders am helleren Kurvenast bemerkbar macht. Die Verschiebung nimmt bei roten Farbstoffen zu und erreicht mit über 20% im Violett ihr Maximum; in der Tat liegt hier das gelbliche Papierweiss in der Nähe der Gegenfarbe. Auch bei Säureschwarz D endet der extrapolierte helle Kurvenast bei einem Grau mit 22% Schwarzanteil. Bei blaugrünen Farbstoffen dagegen rückt die Hauptremissionsbande bei der Verdünnung wegen der gelblichen Farbe des Substrates relativ rasch, unter entsprechender Verschiebung des Farbtons, von der violetten Seite nach längeren Wellenlängen, womit der Schwarzanteil des helleren Kurvenendes wieder sinkt[33].

Das dunkle Ende. Das dunkle Kurvenende der Färbekurven weist, nicht ganz einheitlich, auf ein Schwarz hin, dessen w_{min} zwischen 3 bis gegen 5% liegt. Dies gilt auch für die schwarzen Farbstoffe ($w_{\mathrm{min}} = 3{,}5\%$). Dieser kleine Weissanteil, der aber empfindungsmässig stark in Erscheinung tritt, ist durch Reflexion von unverändertem Licht an der Faseroberfläche bedingt[34]. Entsprechend findet eine Verschiebung der gesamten Färbekurve gegen Weiss zu statt, wie wir dies bei den Optimalfarbreihen gleicher Albedo sahen. Die Verschiebung ist hier am dunkleren Kurvenast besonders ersichtlich. Eigentlicher Oberflächenglanz des Substrates würde dieses Phänomen bei Sicht unter dem Spiegelwinkel noch wesentlich erhöhen.

4. *Abgeleitete Färbekurven.* Um von den Lösungskurven zu den entsprechenden Färbekurven zu gelangen, müssten die spektralen Transmissionswerte der Lösungsfarben mit den Remissionswerten des Substrates in Funktion der Wellenlänge multipliziert werden. Aus den derart bestimmten Remissionskurven wären weiterhin die trichromatischen und Vollfarbkoordinaten der Farbstufen der Färbekurve zu ermitteln[35].

Ein wenigstens bezüglich des Verlaufs im Vollfarbdreieck angenähertes Bild lässt sich aber, trotz Erschwerung durch die gelbliche Färbung des Substrates, auch einfacher gewinnen, wie dies die dünn ausgezogenen Kurven in den Abbildungen 18 bis 21 und 23 zeigen.

Die abgeleiteten Färbekurven erhielten wir durch affine Transformation der Lösungskurven, wobei der Verlauf wesentlich durch die neue Lage des Scheitels und der Aufhängepunkte bestimmt wird. Zu deren Ermittlung dienten folgende Gesichtspunkte:

a) Einheitlich wählten wir als «schwarzen» Aufhängepunkt $w_{\mathrm{min}} = 4\%$, was auch mit dem mittleren minimalen Remissionswert der Spektren sämtlicher konzentrierter Ausfärbungen übereinstimmt (siehe Tabelle II).

b) Da alle Färbekurven beim Verdünnen nach dem hellen Gelb des Färbepapiers zielen, verwendeten wir der Einfachheit wegen die mittlere Remission des Färbepapiers auf der spektralen Langendseite – sie betrug bei $\lambda = 600\ \mathrm{m}\mu$ $w_{\mathrm{max}} = 91\%$ – als (weissen) Aufhängepunkt auf der Grauseite[36].

Einzig bei violetten bis blauen Färbungen, die zu Gelb mehr oder weniger kompensativ sind (siehe zum Beispiel Abbildungen 18 und 19), weist der helle Ast nach dem Gelbpunkt des entgegenstehenden Dreiecks hin. Hier ist der Remissionswert des Färbepapiers bei der Wellenlänge der Transmissionsbande am Kurzende des Spektrums als Weisspunkt zu wählen (etwa 80%).

c) Die Bestimmung der abgeleiteten gelbgrünen, gelben, orangen sowie der violettblauen Färbekurven erfolgt durch doppelte affine Transformation der entsprechenden Lösungskurven nach den gemäss a) und b) ermittelten Aufhängepunkten.

Für die übrigen Farbtöne ist aber vorerst der Scheitel der abgeleiteten Färbekurve gesondert zu bestimmen. Massgebend für die Verschiebung des Scheitels der Lösungskurve gegen Schwarz ist dabei der Betrag der Papierremission am Ort des Transmissionsmaximums auf der violetten Seite, während die weitere Verschiebung des Scheitels nach dem neuen Weisspunkt im Verhältnis 1 : 87 (das heisst 91 – 4) zu erfolgen hat. Die affine Transformation der Lösungskurve kann nunmehr in gewohnter Weise geschehen.

Die Übereinstimmung zwischen beobachteter und abgeleiteter Färbekurve ist beim Tartrazin eine vollständige. Im übrigen treten aber, wie zu erwarten war, besonders in Grenzgebieten Abweichungen auf. Dies ist zum Beispiel bei Ponceau PSNR der Fall, wo bereits ein Nebenmaximum am Kurzende des Spektrums auftritt. Hier befindet sich der Scheitel der beobachteten Kurven gerade in der Mitte der nach b) und c) bestimmten Lagen. Unbefriedigend ist das Ergebnis bei «schwarzen» Farben (Abbildung 23), wo der Schwarzanteil der Scheitelfarbe stärker zunimmt als berechnet, eine Tatsache, die noch weiterer Untersuchung bedarf. Trotz solcher Grenzfälle vermögen unsere Faustregeln zur Ermittlung des Verlaufs der Färbekurve in vielen Fällen, wenigstens überschlagsmässig, nützlichen Aufschluss zu geben.

5. *Natürlicher Schwarzanteil.* Erniedrigter Vollfarbanteil und erhöhter Schwarzanteil gehen bei kalten Farben parallel. Auf den sogenannten natürlichen Schwarzgehalt konzentrierter Ausfärbungen kalter Farben hat OSTWALD bereits vor 40 Jahren aufmerksam gemacht[37]. Das Phänomen ist schon bei Farbstofflösungen zu sehen, viel ausgesprochener aber bei den Färbungen (Abbildung 24). Befindet sich das spektrale Remissionsminimum auf seinem untersten, durch Oberflächenremission bedingten Wert (etwa 4%), so kann bei *warmen* Farben trotzdem das Remissionsmaximum mit demjenigen des Substrates zusammenfallen (über 90%), während es bei *kalten* Farben bloss Werte von 50 bis 60% und selbst weit darunter erreicht.

Der erhöhte Schwarzanteil kalter Färbungen geht, wenigstens teilweise, auf die meist recht erheblich herabgesetzte Remission des Substrates am kurzwelligen Ende zurück.

Durch Bleichung, gegebenenfalls durch sogenannte optische Bleichmittel zur Erzeugung möglichst gleichmässig hoher Remission, lässt sich dieser Anteil vermin-

[33] Der Übergang ist aus der in der Abbildung 19 wiedergegebenen Färbekurve von Brillantsäureblau *G* an der Ausbiegung des hellen Astes zu ersehen.

[34] A. ATHERTON, D. A. GARRET und T. VICKERSTAFF, *The Textile Institute* (Manchester 1954), geben in einer interessanten einschlägigen Arbeit 2% für die Oberflächenreflexion von Textilien an, betonen aber die Variabilität dieses Betrages; siehe auch T. VICKERSTAFF, Proc. Roy. Soc. *57*, 15 (1945). Bei Seidensamt kann der Wert bis auf 0,24% herabsinken, wie schon ROSENSTIEHL, *l. c.* S. 28, angibt.

[35] Über die Ermittlung des Remissionsverlaufs nach KUBELKA-MUNK siehe D. B. JUDD, *Color in Business, Science and Industry* (1952), p. 340.

[36] In Wirklichkeit liegt er bei der gelblichen Farbe des verwendeten Papiers.

[37] W. OSTWALD, *Physikalische Farbenlehre* (Verlag Unesma, Leipzig 1919) S. 199.

dern. Der auch bei Lösungen auftretende Anteil ist aber im wesentlichen darauf zurückzuführen, dass bei kalten Farben zwei nahe beieinanderliegende Absorptionsbanden gerade im Gebiete der Maximalre- bzw. -transmission übereinandergreifen[38].

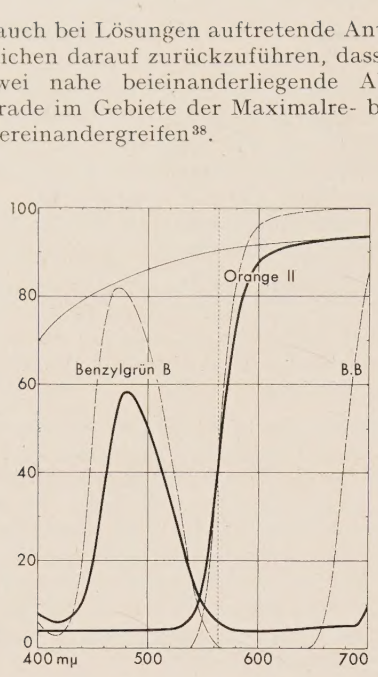


Abb. 24. Erhöhter Schwarzanteil einer «kalten» Farbe gegenüber einer komplementären «warmen».
——— Färbekurven, – – – – Lösungskurven, ——— ungefärbtes Papier, ------- Vollfarbgrenze

Auf kaltem Gebiete wäre somit nach Farbstoffen zu suchen, die steilere Absorptions- bzw. Remissionsbanden zeigen. Möglicherweise wird es gelingen, Farbstoffe mit neuartigen Oszillatorsystemen zu finden, die den Anforderungen besser entsprechen.

Der sogenannte natürliche Schwarzanteil ist mit die Ursache dafür, warum gerade kalte Farben für die Schwarzfärberei bevorzugt werden, ganz abgesehen davon, dass die «spezifische Helligkeit» dieser Farbtöne besonders niedere Werte erreicht. So beträgt sie für die urblaue Vollfarbe etwa $^1/_{20}$ derjenigen der dazu angenähert komplementären urgelben Vollfarbe.

III. *Schluss*

Abschliessend lässt sich sagen, dass unsere theoretischen Erwägungen, die auf dem Optimalfarbzug als idealisierter Konzentrationsreihe beruhen, in der Lage sind, ein objektives Vergleichsmass zur Beurteilung der mit realen Farbstoffen zu erzeugenden Farbreihen abzugeben[39]. Insbesondere tragen sie mit dazu bei, die beim Färben auftretenden vielfältigen Verhältnisse besser zu verstehen. So erlauben sie in relativ einfacher Weise gewisse Voraussagen über den Einfluss der oft von Fall zu Fall wechselnden Beschaffenheit des Substrates (Papier, Textilfasern, Kunststoffe wechselnder Struktur [Glanz] und wechselnden Bleichungsgrades) auf die zu erwartenden Farben, sofern man den Farbverlauf der Lösungskurve des Farbstoffes[40] sowie die Remissionsverhältnisse des Substrates kennt. Dabei wird zu prüfen sein, ob nicht die unterschiedliche Affinität der Farbstoffe zum Substrat einfach durch eine Verschiebung des Farborts innerhalb der vorausgesehenen Färbekurve zum Ausdruck kommt.

Nachdem die vorliegenden Probleme auf mischmetrischer Ebene die erstrebte Abklärung gefunden haben, werden wir die Zusammenhänge der von uns theoretisch abgeleiteten und der experimentell ermittelten Farbreihen unter sinngemässer Übertragung auch auf stufenmetrischer Ebene verfolgen, soweit es der heutige Stand einer empfindungsgemässen Farbmetrik erlaubt. Hier werden anstelle mischmetrischer Begriffe wie zum Beispiel Vollfarbe und Vollfarbanteil entsprechende stufenmetrische, wie farbkräftigste Optimalfarbe und Farbkraftanteil (Chroma nach Munsell[41], Farbintensität nach Hesselgreen oder dgl.), treten. Auch ist die lineare Koordinatenteilung durch eine stufenmetrische zu ersetzen.

Übrigens ist bereits in den Abbildungen 15, 16 und 18 bis 21 jeweils die farbkräftigste Farbe innerhalb der Färbereihen, wie sie im Durchschnitt von zahlreichen Versuchspersonen bestimmt wurde, durch Pfeile besonders hervorgehoben. Sie befindet sich beim Sättigungsmaximum. Hierauf sowie auf die Konstruktion eines spektralen Farbintegrators zur vergleichsweisen Erzeugung von spektral beliebig zusammengesetzten Farben werden wir in folgenden Arbeiten eingehen.

Summary

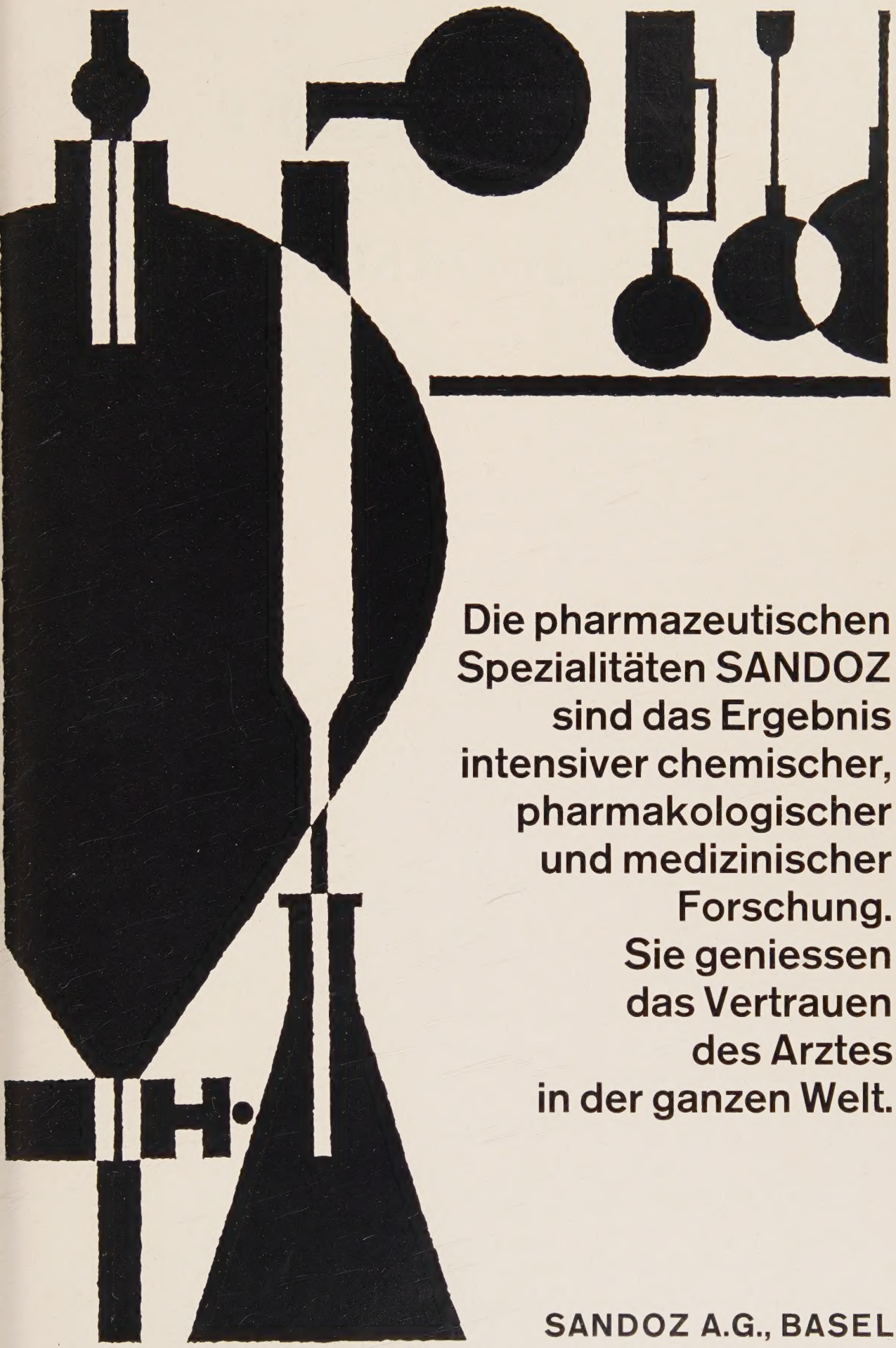
The theory of optimal colours is extended and it is shown that affinic transformation of optimal colour pathes leads to colour series similar to concentration series of Dyestuffs. A relatively simple relationship between such concentration series in solution and dyed on a substrate allows certain predictions over the colour course of the dyes provided the spectral remission of the substrate is known.

[38] Dies zeigt der Vergleich der Kurven in Abbildung 24 besonders deutlich, sofern man sie um 180° gedreht betrachtet. Siehe auch R. Rometsch und K. Miescher, Exper. *9*, 309 (1953), Abb. 3.

[39] Eine andersartige interessante Idealisierung optimaler Farbreihen ist von Dr. Ganz, Z. A. M. P. *8*, 318 (1957), in der CIBA unternommen worden, indem er die Farbenfolge bestimmt, die sich durch gesetzmässige Änderung der Absorptionsbanden bei Gaußscher Verteilung ergibt.

[40] Die Lösungskurve stellt eine feststehende Charakteristik des Farbstoffs dar, sofern dieser einheitlich ist.

[41] Siehe zum Beispiel D. Nickerson und S. Newhall, J. opt. Soc. Amer. *33*, 419 (1943).



Die pharmazeutischen
Spezialitäten SANDOZ
sind das Ergebnis
intensiver chemischer,
pharmakologischer
und medizinischer
Forschung.
Sie geniessen
das Vertrauen
des Arztes
in der ganzen Welt.

SANDOZ A.G., BASEL

ZEITSCHRIFT FÜR NATURFORSCHUNG

Eine unter Mitwirkung der Institute der Max-Planck-Gesellschaft herausgegebene naturwissenschaftliche Zeitschrift

KURATORIUM

A. Butenandt, K. Clusius, W. Gentner, W. Heisenberg, A. Kühn, O. Renner

HERAUSGEBER

H. Friedrich-Freksa, A. Klemm, L. Waldmann, F. Weygand

REDAKTION

T. Littmann, E. Mundinger

Die Zeitschrift für Naturforschung wurde 1946 zur Aufnahme von Originalarbeiten, Notizen und Berichten gegründet, weil andere Publikationsmöglichkeiten damals in Deutschland nicht mehr vorhanden waren. Seit jener Zeit besteht ein enges Vertrauensverhältnis zwischen den aktivsten deutschen Forschungsgruppen und der Zeitschrift für Naturforschung. Ausländische Autoren sind hinzugekommen, und heute hat die Zeitschrift ihren festen Platz in der Welt als eines der führenden Organe auf naturwissenschaftlichem Gebiet.

Die in dem Wort Naturforschung liegende Vielseitigkeit der Zeitschrift bewirkt, dass ihr ausser den Arbeiten aus altbekannten Gebieten der Naturwissenschaft auch solche zufliessen, die ganz neuen, im Schema der Wissenschaftseinteilung noch nicht etablierten Richtungen entstammen. Auch wo sich die Naturwissenschaft neue Anwendungsbereiche in Medizin und Technik erobert, wie in der Kerntechnik, der Halbleitertechnik, der Virus- und Krebsforschung usw., wird man die Pionierarbeiten oft in der Zeitschrift für Naturforschung finden.

Die Zeitschrift für Naturforschung erscheint monatlich in zwei Teilen:

TEIL A

Physik – Physikalische Chemie – Astrophysik

Bezugspreis:
Jahresabonnement 1958 DM 114.–
Komplette Serien
Band 1 (1946) bis Band 12 (1957) DM 1046.–

TEIL B

Chemie – Biochemie und -physik – Biologie

Bezugspreis:
Jahresabonnement 1958 DM 114.–
Komplette Serien
Band 1 (1946) bis Band 12 (1957) DM 882.–

Einzelne Bände und Hefte sind lieferbar. Versandspesen werden extra berechnet. Wegen weiterer Auskunft und Probeheften wende man sich bitte an den

VERLAG DER ZEITSCHRIFT FÜR NATURFORSCHUNG

Tübingen, Postfach 61